Pandemia di COVID-19: analisi critica

di Fabio Franchi [a] (terza versione ampliata: 25 giugno; seconda versione: 1 maggio 2020, prima versione: 3 aprile 2020)

Indice

Sommario ... 2
Abbreviazioni ... 2
Nota importante! ... 2
Premessa ... 3
La definizione di "caso" di COVID-19 ... 3
Prove a supporto di una riclassificazione di malattie note ... 4
La dimostrazione di causa ed effetto ... 6
Le previsioni secondo la teoria virale ... 6
Considerazioni ulteriori sulle modalità di diagnosi ... 7
Confronto tra TAC toracica e "tampone" ... 7
Altri studi a supporto di quanto affermato ... 9
Premesse per la valutazione del significato dei test (sierologia e PCR) ... 10
Quattro sono le situazioni possibili ... 11
Esame dei test sierologici (anticorpali) ... 11
Ricapitolando ... 13
Stime di prevalenza in Italia ... 14
Esame del test (RT-PCR) ... 15
Come hanno proceduto nella preparazone del test(RT-PCR) ... 16
Cosa avviene nel laboratorio (tratto da David Crowe) ... 17
I risultati anomali sono la regola ... 20
Isolamento virale (generalità) ... 20
Asseriti isolamenti del SARS-CoV-2 ... 24
Ulteriore prove a dimostrazione dell'incertezza interpretativa ... 28
Considerazioni riassuntive sull'isolamento virale ... 33
Possibili significati del test ... 34
Come spiegare l'epidemia ... 34
Conclusione ... 35

[a] Già Dirigente Medico presso il Reparto di Malattie Infettive, Azienda Opsedaliero-Universitaria di Trieste, specializzato in Igiene e Medicina Preventiva, inoltre in Malattie Infettive all'Università di Siena

VISIT…

LANZAROTE
Caliente.com

Riconoscimenti 35

Bibliografia 36

Sommario

Lo scopo del presente scritto è quello di rivedere la solidità della teoria virale, se sia in grado di spiegare la COVID-19 e la sua diffusione pandemica. Vengono perciò analizzati i vari aspetti separatamente. La diagnosi è effettuata in base ad una definizione alquanto vaga ed alla positività di un test (RT-PCR) su tampone biologico od artificiale. In questo modo un'ampia quota di casi simili di malattia non sono stati e non sono identificati. D'altro canto, un vasto numero di diagnosi sono state e sono poste a soggetti del tutto asintomatici. Le statistiche sono state presentate in modo scorretto e fuorviante. Le previsioni effettuate con tanta enfasi sono andate fuori misura. La interpretazione dei risultati dei tamponi si è complicata vieppiù dopo l'introduzione più recente dei test anticorpali.
L'affidabilità dei test anticorpali è stata stabilita per confronto con quella della RT-PCR. Tuttavia della RT-PCR non si conosce la sensibilità né la specificità, non essendo stato possibile validarle. La mancata validazione è dovuta alla assenza di un criterio disponibile di riferimento affidabile, il cosiddetto *gold standard*. Quest'ultimo deve per forza essere il virus stesso, il suo effettivo isolamento. Nell'esaminare la letteratura scientifica, si nota che il virus SARS-CoV-2 non è stato correttamente isolato, come dimostrano tra l'altro le fotografie al microscopio elettronico in cui si vedono formazioni diverse tra loro, spesso incompatibili con le caratteristiche del Coronavirus.
La conclusione è che la teoria virale del COVID-19 è falsificata sotto molteplici aspetti: rappresenta il fallimento scientifico di un indubbio successo mediatico, ottenuto con la creazione di una allarme sociale dalle proporzioni mai viste prima.

Abbreviazioni

COVID-19: acronimo di Co (corona); Vi (virus); D ('disease', malattia)
ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay (saggio immuno-assorbente legato ad un enzima)
EUA: Approvazione per Uso di Emergenza (da parte della FDA)
FDA: Food and Drug Administration
ISS: Istituto Superiore di Sanità, ente di diritto pubblico, è posto sotto la vigilanza del Ministero della Salute.
LFA:Lateral Flow Assay noto anche come lateral flow immunochromatographic assay (test a flusso laterale)
PBS: tampone fosfato salino
PCR: Rezione Polimerasica a Catena, moltiplica esponenzialmente segmenti di DNA; RT-PCR: Reazione Polimerasica a Catena per poter moltiplicare segmenti di RNA. Il primo passaggio , da RNA a DNA avviene tramite un ciclo con transcriptasi inversa,
PPA: concordanza positiva percentuale; NPA: concordanza negativa percentuale;
Spikes:estroflessioni sulla superficie del capside virale;
SARS-CoV-2: coronavirus responsabile della COVD-19

Nota importante!

Le immagini relative alle fotografie elettroniche del SARS-CoV-2 sono copiate e riprodotte con un disegno, il più possibile fedele, di quelle presenti sulle pubblicazioni citate. Per poter vedere le immagini originali è necessario accedere direttamente ai lavori scientifici da cui sono tratte e che sono disponibili a tutti.

Questo lavoro è dedicato al ricordo del prof **Luigi De Marchi**,

amico e maestro ineguagliabile

"It's too late to correct", said the red Queen. "When you have once said a thing, that fixes it and you must take the consequences".

Lewis Carroll. *Through the looking glass.*

Premessa

L'urgenza di fronteggiare una polmonite interstiziale, di causa inizialmente ignota con alta mortalità ed a rapida diffusione [1], [2] ha permesso un approccio frettoloso e grossolano. Sono state avanzate allo scopo delle ipotesi operative, senza che fosse seguita presto un'analisi completa con una impostazione metodologica corretta.

È tempo di rivalutare i passaggi più importanti, in particolare alcuni aspetti della definizione, dell'isolamento virale e la dimostrazione di causa ed effetto del Coronavirus rispetto alla sindrome respiratoria.

Solo dopo aver compiuto questi necessari passaggi, i misteri e le innumerevoli anomalie della COVID-19 (malattia asseritamente causata dal SARS-CoV-2) potranno essere chiariti e compresi.

La definizione di "caso" di COVID-19

La definizione stabilita dall'OMS prevede tre possibilità: "caso sospetto" [3], "probabile" e "confermato" [4].

Per quanto concerne il primo, è previsto un corredo di sintomi, segni, alterazioni laboratoristiche e radiologiche associato ad un contesto epidemiologico, per il secondo invece si permette che venga posta la diagnosi (seppur probabile) anche con un test di amplificazione genica dal risultato inconcludente (cioè negativo per una delle due proteine ricercate e caratteristiche del SARS-CoV-2), oppure quando sia positivo un test generico per tutti i coronavirus. Quindi vi possono essere inclusi anche soggetti che abbiano per esempio una sindrome influenzale dovuta a comuni coronavirus circolanti od altri microrganismi.

Per esempio in Cina, di 76.314 casi riportati in una estesa *review* [5], il 22,4% vennero catalogati come "casi sospetti", il 14,6% come "diagnosticati clinicamente" e l'1,2% come "asintomatici". Ciò significa che il 37% dei casi riportati nelle statistiche cinesi fino a quel momento era stato diagnosticato solo

su base clinica ("casi sospetti" secondo la definizione OMS). Eppure la informazione *mainstream* fornita alla popolazione del mondo intero li ha presentati tutti come accertati. In più, una quota di positivi al test non presentava alcun sintomo.

Sempre secondo la definizione OMS, il "caso conclamato" si impernia sulla positività del test, di un unico test ovvero la RT-PCR, ed è svincolato dalla sintomatologia e dalla malattia. Quindi "caso" sarà con ogni diritto anche chi stia benissimo, non abbia alcun disturbo né alcuna alterazione laboratoristica (se non al famoso tampone) né radiologica. La ricerca degli anticorpi, che avrebbero dovuto essere considerati fondamentali nel confermare o meno un'infezione acuta, sono stati messi in secondo piano. Erano disponibili fin dall'inizio, ma fino al mese di aprile non sono stati utilizzati ("a causa della discordanza con i risultati del test RT-PCR?" mi domandavo nella prima stesura del presente elaborato). "Altri esami" vengono menzionati, ma non sono indispensabili (sempre secondo la definizione OMS) ed in effetti il più delle volte non sono stati e non vengono effettuati. Ne deriva che i decessi sono considerati come dovuti al Coronavirus se tale test risulta positivo, anche se l'accertamento di causa di morte prevede altre regole (deve essere individuata la patologia più importante che ha portato all'exitus, e menzionate a parte le patologie concomitanti). Per definizione sono previsti casi asintomatici, e, sempre per definizione, se questi muoiono per una qualsiasi ragione, la causa stabilita resta il SARS-CoV-2, il che può essere considerato una forzatura. Sempre in riferimento alla "causa di morte", in Italia è stato seguito il criterio poco scientifico del "tutti dentro", mentre altrove, come in Germania, è stato considerato l'approccio più razionale di registrare la causa principale, seppure con differenze tra un Centro ospedaliero e l'altro [6]. Da qui deriva in parte la differenza di letalità tra Italia e Germania (14,50% versus 4,7%, al 14 giugno 2020). Il capo della Protezione Civile italiana, Angelo Borrelli, ha dichiarato espressamente durante la Conferenza Stampa del 12 marzo che i decessi riguardano soggetti deceduti con test PCR positivo per SARS-CoV-2, senza distinzioni per quelli giunti ad exitus a causa del SARS-Cov-2. La evidenza maggiore in favore della tesi di una malattia di scarsa importanza sociale o che consista nella riclassificazione di malattie già note, sta nella sovrapposizione dell'età media dei deceduti con l'aspettativa di vita (sia all'inizio dell'epidemia [7]che successivamente [8], cioè 80 anni).

Prove a supporto di una riclassificazione di malattie note

Il prof Alessandro Bonsignore, medico legale e presidente dell'Ordine dei Medici della Liguria ha così dichiarato:

> *"Una problematica che riguarda tutto il nostro Paese, ed è collegata al fatto che si è deciso di inserire nel numero di decessi da Coronavirus tutti coloro che sono stati scoperti essere positivi al COVID-19 o durante la propria vito o anche nel post mortem. Quindi noi stiamo azzerando quella che è la mortalità per qualsiasi patologia naturale che sarebbe occorsa anche in assenza del virus. E dico questo con cognizione di causa lavorando nell'Istituto di Medicina Legale dell'Università di Genova, dove abbiamo*

contezza che all'obitorio comunale di Genova i decessi per patologie non COVID sono praticamente scomparsi." [9]

Essendo le statistiche così alterate in eccesso, il risultato è che la percezione della pericolosità viene corrispondentemente aumentata, volendo considerare questo solo fattore.

Vi sono altri elementi per poter sostenere sia stato attuato un piano complesso di manipolazione statistica, come dimostrato dal prof Stefano Scoglio [10].

Così scrive nel suo documento:

> *"Nel 2019 ci sono stati dunque, in un periodo di 41 gg come il periodo scelto dall'ISTAT per il 2020, 89.593 morti, un numero di appena l'1.5% inferiore a quello del 2020. [...]*
>
> *Nel 2017 ci sono stati dunque, in un periodo di 41 gg come il periodo scelto dall'ISTAT per il 2020, 96.417 morti, un numero superiore del 6% rispetto al numero ISTAT 2020.*
>
> *Questo chiude la questione: il numero di morti del periodo centrale della crisi del 2020 è assolutamente normale, assolutamente nella media, e dunque non c'è stata nessuna pandemia."*

Anche il prof Stefano Petti aveva fatto analoghe osservazioni.

Ha scritto [11]:

> "*Ho calcolato le morti in eccesso in Italia e in Lombardia per il 2019, secondo il trend dal 2002 al 2018: le morti attese in Italia nel 2019 erano 642.000 ma se ne sono verificate 647.000, quindi 5.000 in più dell'atteso ma comunque entro l'intervallo di confidenza (627.000-656.000). Ho fatto lo stesso calcolo per la Lombardia ed è emerso che le morti attese erano 98.500 ma se ne sono verificate quasi 102.000, quindi quasi 3.500 in più dell'atteso e oltre l'intervallo di confidenza (96.000-101.000).* ***È quindi una differenza totalmente inaspettata che ci dice che nel 2019 il 70% delle morti in eccesso in Italia si sono verificate nella sola Lombardia.***
>
> *La Lombardia ha sempre avuto un numero di decessi pari al 15% del numero totale in Italia ma* ***questa percentuale sta rapidamente aumentando dal 2014 ad oggi e questo si riflette nell'enorme numero di decessi per cause multiple che si sta verificando in questa regione".***

Ed ancora [12]:

> *"A mio parere – aggiunge Petti – l'ipotesi degli epidemiologi inglesi calza anche per la Lombardia. Nelle RSA lombarde vi è un numero molto elevato di anziani con patologie gravi, non autosufficienti, che non hanno avuto accesso agli ospedali perché occupati. In aggiunta a ciò, la delibera ha spostato nelle RSA anche i ricoverati degli ospedali che non avevano il Covid (oltre a una parte di quelli che avevano il Covid).*
>
> *Possiamo purtroppo dire anche noi che molti anziani non sarebbero morti se fossero potuti andare in ospedale.*

In altre parole: la mortalità nel 2020 è aumentata in modo considerevole per il Covid 19, non solo per la malattia quanto per le misure eccezionali prese per combatterla".

La dimostrazione di causa ed effetto

Anche se si volesse comunque sostenere - senza prove solide - che un nuovo coronavirus si sia diffuso prima in Cina e poi ad Alzano Lombardo in Italia, ci sarebbe bisogno della dimostrazione del nesso causale tra virus e malattia (polmonite virale interstiziale bilaterale), il che non è stato ancora fatto [13].

La medicina basata sulle prove (la EBM) lo richiede, e per buone ragioni. Robert Koch aveva capito – circa 130 anni fa - che la sola presenza di un microrganismo non significava necessariamente che fosse causa di qualche specifica patologia, perciò stabilì dei criteri logici a cui ancora oggi si fa riferimento (i postulati di Koch [14]). Tuttavia allora i virus non erano conosciuti, perciò delle correzioni andavano adottate [15], ed i criteri adattati senza stravolgerli.

Possiamo intanto osservare che la malattia (polmonite interstiziale bilaterale) può avvenire anche senza il risultato positivo del test (RT-PCR) per il SARS-CoV-2, e che lo stesso può essere presente in pieno benessere, in assenza di malattia o di incubazione in atto. In altre parole, il SARS-CoV-2 (ovvero il suo test non validato, preso come riferimento) non è necessario né sufficiente per causare polmoniti o sindromi influenzali in una parte cospicua di casi nell'ambito dell'attuale epidemia.

Le previsioni secondo la teoria virale

In più, le previsioni effettuate sulla ipotesi infettiva non si sono avverate. Per esempio, il numero di casi e di decessi nelle due nazioni che non hanno attuato il lockdown, e che avrebbero dovuto essere travolte dall'ondata epidemica, Svezia [16] e Giappone [17], hanno avuto meno decessi – anche in rapporto alla popolazione - rispetto a buona parte di quelli che il lockdown l'hanno effettuato, tra cui gli italiani [18]. In Italia, gli esperti del governo avevano previsto che l'andamento dell'epidemia, con le misure che sono state prese, sarebbe stato ben diverso [19] da quello avvenuto in realtà. Sempre in Italia, il comitato tecnico della "task force" governativa, aveva tra l'altro ipotizzato alla fine di aprile che a metà giugno ci sarebbero stati fino a 151.000 degenti in terapia intensiva [20] in caso di "riapertura". In realtà a metà giugno ce n'erano poco più di 300.

Nel passato sono state effettuate previsioni di imminenti micidiali pandemie, nel 2018 con un ipotetico fardello di 33 milioni di morti in 6 mesi [21] e nel 2019 con 65 milioni di morti [22]. Attualmente, a 6 mesi dall'inzio di quella attuale di COVID-19, si sono registrati meno di 500 mila decessi in una popolazione mondiale di 7,8 miliardi (mortalità alla fine di giugno 2020: 0,0064%).

In Cina la loro piccola epidemia è di colpo sparita [23], [24] pur avendo il governo chiuso solo alcune grandi città (coinvolgendo 60 milioni di abitanti, cioè 1/24 della popolazione totale). Eppure la COVID-19 aveva avuto il tempo di diffondersi con focolai in tutto il territorio [25]. Credibile?

Per confronto, al mondo morivano di fame oltre 2,6 milioni di bambini all'anno nel 2018 [26], e 113 milioni di persone erano allo stremo per fame [27]. È probabile che d'ora in poi ce ne saranno molti di più, grazie alla catastrofe economica provocata dalle misure attuate asseritamente per arginare la pandemia di COVID-19.

Considerazioni ulteriori sulle modalità di diagnosi

In Italia la diagnosi di "caso confermato" è indipendente dalla sintomatologia ed è legata solo al risultato del test (RT-PCR da tampone nasofaringeo). In caso di coinfezione con "altri patogeni" [i.e. virus e batteri], comunque viene assicurato al SARS-CoV-2 una sorta di diritto di prelazione [28]. La definizione OMS lo prevede chiaramente e l'Italia l'ha adottata in pieno [29].

Quando ad Albenga è stata colpita da una forma grave di polmonite una studentessa di 17 anni, negativa ad esami ripetuti [30], il giornalista ha così commentato: "*Un caso, almeno in apparenza, difficilmente spiegabile, considerato che gli esperti ritengono estremamente improbabile l'ipotesi di un falso negativo al test, figuriamoci a più test successivi oltretutto di differente natura*". Invece gli esperti ed i medici sapevano bene che fosse un'eventualità frequente, fin da subito, come si può dimostrare.

Confronto tra TAC toracica e "tampone"

Erroneamente è stato dato per scontato che quasi la totalità delle polmoniti interstiziali nella attuale pandemia, iniziata in gennaio in Cina, fossero positivi al tampone (e RT-PCR). Tuttavia, già alla fine di febbraio 2020 era stato pubblicato uno studio di ricercatori cinesi su 1014 pazienti esaminati nell'epicentro - spaziale e temporale - dell'epidemia (dal 6 gennaio al 6 febbraio, nel principale ospedale a Wuhan) [31]. Un lavoro di fondamentale importanza e di esemplare chiarezza.

Questi pazienti erano stati ammessi in ospedale con diagnosi clinica di sospetta COVID 19. A tutti loro è stata effettuata la ricerca con RT-PCR del SARS-CoV-2, ripetuta più volte su tampone faringeo, e la TAC toracica. L'esame delle radiografie è stato effettuato da due esperti radiologi che erano a conoscenza delle condizioni cliniche e delle circostanze epidemiologiche, ma erano stati tenuti all'oscuro dei risultati della PCR per non influenzarli. I risultati sono stati molto diversi dall'atteso. Delle 888 polmoniti interstiziali compatibili con il quadro classico della COVID-19, solo 580 sono state identificate come positive alla RT-PCR. Il tasso di positività totale alla RT-PCR era del 59% (601/1014). Dei 413 pazienti con risultati negativi alla RT-PCR, il 75% aveva le TAC toraciche alterate.

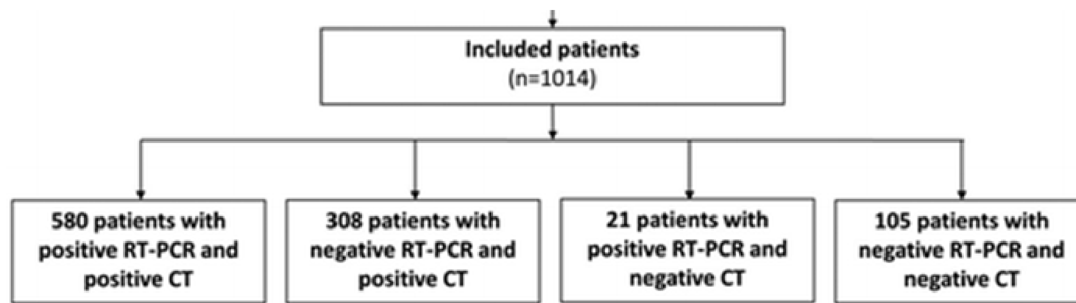


Figura 1. Flowchart tratta dalla Figura 1 dello studio di Ai T et al.

Che fatti simili non succedessero e non succedano solo in Cina, lo prova una lettera pubblicata su Radiology da parte di ricercatori italiani, tra cui pure il prof Maurizio Pregliasco. Gli Autori italiani erano ben consci della elevata frequenza di casi COVID-like fin dalla prima metà del mese di marzo 2020 [32], ma preferirono non pubblicizzare. Alcuni giornali ne hanno parlato un giorno solo, a metà maggio, due mesi dopo.

Da Il Giornale [33] del 17 maggio:

[prof M Balzanelli] «*La TAC svela il secondo riscontro: polmonite interstizio-alveolare Covid-like. Ma "questo caso è solo uno dei tanti. Nella nostra esperienza, circa il 50% dei pazienti presenta quadro combinato di insufficienza respiratoria acuta, negatività all'esame del tampone, riscontro laboratoristico e soprattutto radiologico alla TAC del torace, altamente suggestivo di Covid-19", sintetizza l'esperto.*»

[Prof F Pregliasco]: «*E' vero: sono stati rilevati casi simil-Covid con tampone negativo e polmonite interstiziale, e questi casi preoccupano perché potrebbero sfuggire"" [...] Ebbene, questo ci dice che il valore del tampone deve essere esaminato*».

La importanza di questi riscontri è molto rilevante, ed al pubblico sono stati presentati in modo da non darci troppa importanza.

Il prof Pregliasco et al avevano pubblicato su Radiology questo risultato con qualche maggior dettaglio già alla fine di febbraio, cioè due mesi prima, e scrivevano:

«*In una settimana, abbiamo riscontrato 100 radiografie al torace su 100 (59%) ... con anomalie altamente sospette per la polmonite COVID-19 (3). Il coinvolgimento era bilaterale in tutti i casi: nel 54% dei pazienti il coinvolgimento era simmetrico, mentre le anomalie della radiografia del torace erano maggiori su un lato del torace nel 46%..*»

Dunque hanno scritto: *"**I tamponi ed RT-PCR non sono stati eseguiti** per conferma"* e poi hanno aggiunto: *"pazienti asintomatici o minimamente sintomatici possono presentare radiografie del torace positive dopo 14 giorni di quarantena, **anche senza test RT-PCR** per COVID-19".*

> **Così scritto significa che quei pazienti non avevano effettuato i test. Invece li fecero e diedero risultato negativo come risulta dalle interviste citate. Due errori concordanti che è difficile credere non siano intenzionali.**

Dunque una quota rilevante di polmoniti interstiziali è risultata negativa al test di riferimento. Lo stesso dicasi anche per una quota rilevante di malattie meno gravi (sindrome influenzali) durante questa stessa epidemia. Per questi casi devono essere considerate necessariamente altre cause. Non si tratta di un marginale ed accettabile 5% di scarto rispetto all'atteso. Uno scostamento del 30-50% mette in crisi l'impostazione teorica. La teoria di un agente unico alla base della pandemia di COVID-19 viene a cascare anche se i test fossero validi.

Bisogna allora considerare che le cause della sindrome epidemica, presenti laddove il test è negativo, possano essere presenti ed operare anche laddove il test è positivo (in questo caso il test sarebbe di valore ed utilità nulli).

L'efficacia riconosciuta di una particolare terapia antibiotica somministrata routinariamente in caso di sospetto od accertato COVID-19, dà sostegno a questa ipotesi. Infatti l'azitromicina (piuttosto che un betalattamico), permette di considerare il ruolo eziologico di particolari batteri (Mycoplasma), non semplici da coltivare, ed in grado di provocare polmoniti interstiziali.

Altri studi a supporto di quanto affermato

Non deve sembrare che i riscontri discussi nella precedente sezione siano isolati. Ecco come riassume il problema Woloshin sul N Engl J Med [34], un bel problema:

> *"Due studi a Wuhan, in Cina, destano preoccupazione per i falsi negativi dei test RT-PCR in pazienti con apparente malattia di Covid-19. In una prestampa, Yang et al. hanno descritto 213 pazienti ricoverati in ospedale con Covid-19, di cui 37 gravemente malati. Hanno raccolto 205 tamponi della gola, 490 tamponi nasali e 142 campioni di espettorato (mediana, 3 per paziente) e hanno utilizzato un test RT-PCR approvato dal regolatore cinese . Nei giorni da 1 a 7 dopo l'insorgenza della malattia, l'11% dell'espettorato, il 27% dei campioni nasali e il 40% dei campioni di gola sono stati considerati falsamente negativi. Zhao et al. studiato 173 pazienti ospedalizzati con sintomi respiratori acuti e una TC toracica "tipica" di Covid-19 o SARS-CoV-2 rilevata in almeno un campione respiratorio. La sieroconversione anticorpale è stata osservata nel 93% . I test RT-PCR su campioni respiratori prelevati nei giorni da 1 a 7 del ricovero erano positivi alla SARS-CoV-2 in almeno un campione dal 67% dei pazienti. Nessuno dei due studi ha riferito di utilizzare un panel indipendente, ignaro dei risultati dei test sugli indici, per stabilire una diagnosi finale della malattia di Covid-19, che potrebbe aver distorto i ricercatori verso una sopravvalutazione della sensibilità. In una revisione*

sistematica prestampata di cinque studi (esclusi gli studi Yang e Zhao), che hanno coinvolto 957 pazienti ("con sospetto di Covid-19" o con "casi confermati"), i falsi negativi variavano dal 2 al 29%."

L'impressione è che scrivano senza capire.

Premesse per la valutazione del significato dei test (sierologia e PCR)

Val la pena ripercorrere le fasi di una ipotetica infezione virale, per meglio capire poi se quanto osservato nella COVID-19 è coerente con essa.

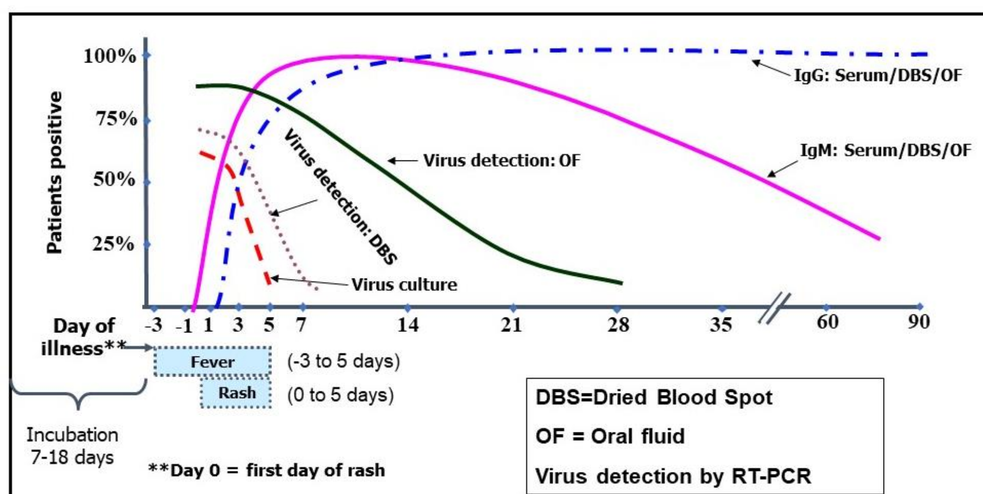
Al tempo "zero" avviene il contagio: il virus penetra nell'organismo ed incomincia a replicarsi in modo esponenziale nelle cellule bersaglio (fase 1).

Dopo un periodo di incubazione (fase 2) della durata di 7-14 giorni, senza sintomi, la quantità di virus è rilevante e l'organismo comincia a produrre anticorpi. I primi a formarsi sono della classe IgM e quasi subito dopo quelli della classe IgG, inizialmente a basso titolo, più lenti ad aumentare. In questa fase (fase 3) iniziano i sintomi (febbre, eccetera), segno della "lotta dell'organismo contro l'invasore". L'esito va verso la risoluzione, poco comuni sono le complicanze, molto raramente vi è la cronicizzazione od il decesso.

Quindi dovremmo aspettarci che all'inizio della malattia il virus sia facilmente evidenziabile ("tampone" positivo alla RT-PCR) e siano presenti le IgM e le IgG.

Le IgM durano in circolo circa 4-6 mesi, quindi trovare le IgG da sole significa che l'infezione è stata superata 4 mesi prima ed oltre.

La presenza del virus dovrebbe essere rilevabile 1-2 giorni prima dell'inizio dei sintomi e poi solo nei primi 4-6 giorni di malattia. Il tampone e la PCR dovrebbero rispecchiare la possibilità di isolamento dell'agente virale in cultura, anche se può succedere che la PCR dia risultati anomali anche in altri contesti, come spiegheremo.



* WER: 25, 2008, 83, 225–232 and MMWR: 2008; 57:657-660

Figura 2. Schema dell'infezione da morbillo. Tratto da WER:25,2008,83,225-232 e MMWR:2008;57:657-660.

Dal punto di vista diagnostico è più utile il test anticorpale (ammesso che sia valido) perché, associato alla clinica, ci informa che l'organismo ha reagito contro un'aggressione proprio di quel virus (nel presente, nel tempo recente oppure nel passato).

Il tampone (RT-PCR per SARS-CoV-2) invece, ci indica (ammesso che sia valido), solo la presenza di quel determinato virus. Non ci può indicare la sua quantità per i limiti insiti al test. Non ci può indicare se l'ipotetico agente ritrovato abbia il ruolo di patogeno o uno di innocuo passeggero. Per esempio il meningococco è frequentemente presente sulle mucose del naso-faringe della popolazione (in media nel 10% di essa con ampie oscillazioni) senza dare alcun disturbo, comportandosi cioè da simbionte. Solo raramente il germe penetra nel circolo o nelle meningi dando luogo ad una patologia grave (sepsi e meningite). Altri germi sono presenti in qualità di simbionti.

Quattro sono le situazioni possibili

Potremmo avere 4 situazioni che devono necessariamente essere in accordo con la clinica:

a) tampone positivo ed assenza di anticorpi in soggetto asintomatico (interpretazione: fase presintomatica contagiosa, oppure virus passeggero innocuo, oppure falso positivo);

b) presenza di positività per PCR e per anticorpi IgM ed IgG (interpretazione: malattia in fase acuta precoce, sintomatica od asintomatica, contagiosità presente);

c) negatività per PCR e positività per anticorpi IgG ed IgM (interpretazione: malattia recente, superata nei 6 mesi precedenti l'esame, assenza di contagiosità);

d) negatività dei risultati per PCR ed IgM, positività per IgG (interpretazione: malattia sintomatica o meno, avvenuta almeno 4 mesi prima, protezione e assenza di contagiosità).

Combinazioni diverse da queste, specie se numerose, dovrebbero mettere in allarme, sarebbero il segno di una teoria errata. In realtà ce ne sono e sono appunto numerosissime (vedremo in dettaglio qualche esempio).

Tenendo presente l'evoluzione della ipotetica infezione virale, sopra tracciata, esamineremo prima il valore dei test anticorpali e poi il test RT-PCR per la COVID-19.

Esame dei test sierologici (anticorpali)

Il test sierologico potrebbe essere un validissimo ausilio sia per la diagnosi che per stabilire la prevalenza dell'infezione in una determinata popolazione. Perciò

anche l'ISS italiano ha programmato un'indagine su un campione della popolazione generale.

Tuttavia per capire cosa potersi aspettare è indispensabile conoscere le sue "prestazioni", che non sono omogenee tra i vari kit a disposizione. Queste vengono precisate con la sensibilità e la specificità espresse come percentuale. La sensibilità è tanto maggiore quanto meglio riesce ad individuare i veri positivi (VP/VP+FN); la specificità invece quanto più riesce ad identificare i veri negativi (VN/VN+FP). Per esempio, in una pubblicazione [35] gli autori avevano calcolato che la sensibilità era del 88,66% e la specificità del 90,63% , avendo come termine di confronto il test RT-PCR per SARS-CoV-2 su tampone e la clinica (polmonite interstiziale bilaterale ed altre malattie).

Tali valori forniscono risultati molto variabili, a seconda della prevalenza dell'infezione nella popolazione in oggetto (sia essa passata o presente). Invece il valore predittivo positivo e quello negativo permetterebbero di calcolare esattamente il risultato da aspettarsi in contesti epidemiologici differenti.

Per esempio, se la prevalenza è bassa, allora vi sarà un numero eccessivo di falsi positivi (oltre ad una quota di falsi negativi), rendendo l'indagine del tutto fuorviante. Con una prevalenza stimata del 5% [36], il risultato positivo sarà più probabilmente falso (falsi 2 su 3) [37]. Se la prevalenza fosse del 12%, la probabilità di avere un risultato positivo falso, sarebbe di quasi 1 su 2 [38].

Quindi è indispensabile avere a disposizione un test con prestazioni ottimali ed una stima realistica della prevalenza [39], per poter ottenere risultati di qualche valore. Entrambi questi requisiti sono mancati sinora.

> "*La FDA ha revisionato la sua politica e specificato il tipo di prove necessarie affinché i test anticorpali rimangano in vendita. Al posto della sensibilità e specificità La FDA ha usato i termini di concordanza positiva e negativa percentuale (PPA e NPA). Questi valori sono calcolati in maniera identica alla sensibilità e alla specificità ma sono usati quando il test comparativo è riconosciuto come imperfetto. In questo caso il miglior termine di paragone è il test con la PCR per le l'RNA del coronavirus, che non è riconosciuto correntemente come uno standard di correlato clinico. Per riassumere, la FDA afferma che i dati che supportano i test anticorpali per il COVID 19 dovrebbero dimostrare un minimo di 90% alla PPA, l'equivalente alla sensibilità, ed un 95% di NPA, equivalente alla specificità per i test che riportano specificamente le IgM e le IgG, la PPA minima del 70% del 90% sono richieste per le IgM e le IgG rispettivamente.*" [40]

La importanza della questione è stata anche evidenziata sul sito Medscape che ha pubblicato un articolo dal titolo: "*COVID-19: il passaporto immunitario non è più affidabile del lancio di una moneta (testa o croce)*" [41]. In precedenza avevo io stesso pubblicato un articolo dal titolo: Ipotesi "test a tappeto".(23 aprile 2020) test per COVID19 confrontato con il "test della margherita" [42]-

Fino alla metà di giugno 2020 nessun test era stato approvato dalla FDA se non con EUA (Autorizzazione per l'Uso in Emergenza)[43].

La EUA prevede che siano accettate le caratteristiche così come rappresentate dalle Case Produttrici dei kit, senza verifica delle stesse Autorità regolatrici (FDA) o di analisi di qualità indipendenti.

> *"Il test non dovrebbe essere usato per diagnosticare la infezione SARS-CoV-2 acuta. La sensibilità della SARS CoV-2 precocemente dopo l'infezione è sconosciuta. Risultati negativi non precludono una infezione acuta. Se è sospettata un'infezione acuta, è necessario il test diretto dalla SARS-CoV-2. Risultati positivi falsi con il test possono avvenire dovuti alla presenza di altri anticorpi preesistenti o altre possibili cause. Il test è inteso per l'uso sotto l'autorizzazione per l'uso di emergenza da parte della FDA."* [44]

La FDA permette anche che tali parametri vengano valutati con l'uso di campioni artificiali e non con quelli da malati reali, il che può apparire come un controllo formale facilitato (e di discutibile correttezza):

> *"Le valutazioni cliniche, la valutazione delle prestazioni di un test su campioni di pazienti, variano a seconda del produttore. La FDA preferisce l'uso di "campioni clinici naturali" ma ha consentito l'uso di "campioni artificiali" prodotti aggiungendo RNA virale o virus inattivato al materiale clinico residuo."*[45]

La FDA ha stabilito che i termini "sensibilità" e "specificità", siano sostituiti con le locuzioni "concordanza positiva percentuale" e "concordanza negativa percentuale". Il significato è equivalente ma comportano l'implicita ammissione di quel che andiamo sostenendo: che i test non sono stati validati correttamente.

Sono state pubblicate alcune valutazioni comparative di kit diagnostici da parte di gruppi indipendenti, ma i risultati sono stati deludenti: hanno riscontrato una modesta concordanza tra di essi, il che sta anche a significare che sono ben lungi dall'essere standardizzati [46], [47].

Dei numerosissimi test inizialmente approvati con EUA [48], solo 4 sono stati controllati dall'agenzia (al 18 giugno 2020) ed uno revocato per non conformità ai requisiti minimi [49].

C'è un altro elemento che dovrebbe spingere a porsi qualche domanda: la Abbott ha rinunciato alla determinazione delle IgM (il test cerca solo le IgG). Poiché non vi sono difficoltà tecniche per distinguere le due classi di anticorpi da almeno 40 anni, è legittimo pensare che vi abbiano rinunciato per risultati non compatibili, non coerenti o in forte disaccordo con il test del tampone.

Ricapitolando …

La validazione dei test anticorpali è basata sul confronto con la clinica (diagnosi di COVID-19 per polmonite interstiziale) e tampone positivo, e non sull'isolamento virale (del SARS-CoV-2). Come già detto, è accettato anche il tampone su "campione artificiale". Sono stati considerati come "falsi" gli esami positivi derivati dal sangue di donatori sani conservato prima del dicembre 2019. Quindi tutto si basa sulla teoria virale che prevede che il virus sia nato nel dicembre

2019 in Cina e sull'affidabilità del tampone da nasofaringe o da liquido da broncolavaggio con relativo esame RT-PCR.

Il vicolo cieco in cui si è cacciata la scienza della COVID-19 è ben evdente alla lettura del già citato Woloshin [50]:

> *"Normalmente, gli studi sulle prestazioni del test comportano che i pazienti siano sottoposti a un test indice e ad un test "standard di riferimento" che determini il loro stato reale. La sensibilità clinica è la proporzione di test-indice positivi in pazienti che hanno effettivamente la malattia in questione."*

Già: e come capire se il malato ha proprio quella malattia? La risposta che danno è "con un test di riferimento", che spesse volte però viene negativo. È negativo falso o vero? Bisognerebbe forse fare un altro test di controllo sul controllo per capirlo ...

Stime di prevalenza in Italia

In Italia le stime di prevalenza riportate dai mass media nazionali da parte di esperti sono state le più disparate e non si sa su cosa esattamente fossero basate. Il prof Andrea Crisanti ha dichiarato il 22 marzo che i "positivi" reali in Italia dovevano essere 130/150.000[51]. Borrelli, capo della Protezione Civile parlò di 600 mila contagiati il 24 marzo [52]. Lo stesso prof Crisanti aumentò le stime a 450.000 poco dopo, il 25 marzo [53]. Secondo il prof Matteo Bassetti erano 6-12 milioni in data 14 aprile [54]. La stima del prof Pasquale Bacco è ancora più alta: oltre 20 milioni di italiani (il 34%) [55]. Per arrivare a queste cifre si è basato su un'ampia indagine effettuata da una equipe (di cui non si conoscono il numero ed il nome dei componenti) su soggetti sani lavorativamente attivi [56] . E' stata effettuata con tre test differenti di cui non sono stati pubblicati né il nome né le caratteristiche. L'incidenza delle IgG in coloro che sono risultati positivi è stato del 74%. Così scritto significa che nel rimanente 26% dei positivi c'erano solo IgM. Il che suscita notevoli perplessità e difficoltà interpretative, prima tra tutte la presenza della supposta infezione già da lungo tempo nella popolazione, ben prima della "nascita" del nuovo virus.

Il primo studio italiano pubblicato, effettuato su personale sanitario, riporta una prevalenza del 17% su oltre 700 soggetti asintomatici, effettuate nel marzo-aprile 2020 [57]. Non viene riportata la percentuale in cui erano positive le IgM, né viene considerato il calcolo dei falsi positivi e negativi.

Recentemente è iniziata, da parte del Ministero della Salute italiano, una indagine governativa su un ampio campione della popolazione (150.000 soggetti). Nei fascicoli informativi non viene riportato il problema dei falsi (positivi e negativi), pur essendo quanto mai rilevante. Non ne hanno accennato neanche gli esperti italiani spesso consultati ed intervistati dai media nazionali e neppure gli Autori dei due studi italiani sopra menzionati. Vero è che la Abbott vanta ora per il suo test una ragguardevole sensibilità e specificità, balzate al

100% e 99,6% rispettivamente [58]. Tuttavia nella documentazione, sempre della Abbott, fornita dal sito della FDA americana, si leggono caute precisazioni [59]:

> "*Una IVD (diagnostica in vitro) resa disponibile ai sensi di una EUA non ha subìto lo stesso tipo di revisione di una IVD approvata dalla FDA o autorizzata. La FDA può emettere un EUA quando sono soddisfatti determinati criteri, che includono che non ci sono alternative adeguate, approvate, disponibili e basate sulla totalità delle prove scientifiche disponibili, e che è ragionevole credere che questa IVD possa essere efficace nel rilevamento di anticorpi IgG contro il virus che causa la COVID-19.*"
>
> NB: si dà per scontato che la relazione di causa ed effetto sia stata dimostrata, il che non è.

Come detto, il test anticorpale si appoggia sui risultati di un altro test (RT-PCR) su tampone, considerandolo affidabile. Lo è veramente? Certamente no, non può essere considerato un riferimento sicuro, come ammesso da ricercatori che l'hanno esaminato e fatto confronti [60]:

> *"L'accordo tra ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) e LFA (Lateral Flow Assay) variava dal 75,7 al 94,8%. [...]*
>
> *L'accordo tra i risultati degli LFA con quelli degli ELISA Epitope IgG e IgM variava dal 75,7% al 85,6%, mentre l'accordo con l'ELISA interno variava dall'83,5% al 94,8%.*
>
> *Non esiste un "gold standard" per identificare veri campioni di sangue sieropositivi. L'entità e il decorso dello sviluppo degli anticorpi non sono ancora del tutto chiari e possono variare tra popolazioni diverse, anche tra i casi confermati da RT-PCR.*
>
> *Abbiamo osservato bande positive da moderate a forti in diversi campioni di donatori di sangue pre-COVID-19, alcuni dei quali positivi a test multipli, suggerendo la possibilità di legame non specifico di proteine plasmatiche, anticorpi non specifici o reattività crociata con altri virus. Tre dei campioni pre-COVID-19 (2,8%) sono stati valutati positivi con più di tre saggi.*
>
> *Curiosamente, la frazione di test positivi era più alta in una serie di campioni recenti ottenuti durante l'epidemia COVID-19 da soggetti sottoposti a diagnosi differenziale per virus respiratori, molti con RT-PCR SARS-CoV-2 negativa.*
>
> *È importante sottolineare che non sappiamo ancora fino a che punto i risultati positivi della sierologia riflettano una risposta immunitaria protettiva."*

Esame del test (RT-PCR)

Permette di ricercare la sequenza nucleotidica dell'ipotetico virus.

Come funziona?

Un campione di muco (tampone naso faringeo o da liquido da broncolavaggio) è preso al paziente. Quindi, in laboratorio, la sequenza nucleotidica del virus – ammesso che ci sia - è estratta e copiata ripetutamente, facendo diventare grandi anche minute quantità rendendole quindi determinabili con altre metodiche.

Ce lo spiegano più in dettaglio Corman et al, coloro che tra i primi ne hanno preparato uno che poi è stato adottato estesamente: "*noi ci siamo proposti di sviluppare e schierare una metodologia diagnostica robusta senza avere il materiale virale a disposizione*" [61]. Nota bene: "*senza avere il materiale virale a disposizione*"! Hanno avuto la sequenza genica via internet e su quella hanno lavorato. A distanza e sulla fiducia.

Il problema è grosso: prima di validare il test, questo dovrebbe venir confrontato con il *gold standard*, ovvero proprio con il virus la cui presenza ha il compito di rivelare. L'amplificazione genica non è sostitutiva di questo passaggio. È un mezzo potentissimo, in grado di scovare minute quantità di materiale genetico moltiplicandolo per due, e poi di nuovo più e più volte. Da un solo frammento con un ciclo se ne formano 2, da due 4, da quattro si arriva ad otto … Con 20 cicli consecutivi arriviamo già a circa 1 milione di copie. Con 21 cicli 2 milioni, con 30 cicli un miliardo. Il sistema non ha un'alta efficienza, quindi si tratta di misure teoriche, quelle vere sono inferiori. Insomma, trasforma un ago, disperso in un pagliaio, in un grande "covone" di aghi, ben esaminabili ma non ben quantificabili. Tale test, anche nel caso del SARS-COV-2, non amplifica il virus intero, ma lo fa con una o due piccole sequenze nucleotidiche considerate peculiari di quel virus. Il numero di cicli utilizzati è importante: più alto è il loro numero più facilmente darà positività e viceversa. I kit presentati per l'approvazione della FDA americana prevedono un numero di cicli differente (da 35 a 45). Anche qui nessuna standardizzazione.

Come hanno proceduto nella preparazone del test(RT-PCR)

La procedura seguita (e descritta in modo molto semplificato) è stata la seguente: il liquido da lavaggio broncoalveolare dei primi pazienti affetti da polmonite interstiziale bilaterale è stato posto in coltura cellulare sicuramente non infetta. Dopo qualche giorno, al manifestarsi di zone di citolisi, il liquido sopranatante è stato sottoposto ad ultracentrifugazione per eliminare i residui cellulati da una parte ed estrarre gli acidi nucleici presumibilmente estranei. Questi sono stati amplificati in vario modo (anche con la RT-PCR, in cui RT sta per transcriptasi inversa). Successivamente sono stati confrontati con sequenze batteriche e virali note. E' stata ritrovata un'omologia tra alcune sequenze e quelle di Coronavirus noti. Successivi passaggi hanno permesso di trovare La sequenza nucleotidica completa del nuovo SARS-CoV-2 (RNA a singola elica positiva di circa 30.000 basi). Sequenze nucleotidiche leggermente diverse sono state identificate da diversi gruppi di ricerca. Sono state poi isolate alcune piccole sequenze nucloetidiche (100-200 nucleotidi) caratteristiche di tutti i Coronaviridae ed alcune peculiari del SARS-CoV-2. Oltre a ciò, hanno controllato al microscopio elettronico sezioni ultrafini delle colture cellulari presumibilmente

infettate (nello studio di Zhu et al. [62]), dove han ritrovato le particelle similvirali visibili nelle immagini di cui alle figure 9 e 10. Nello studio di Zhou [63] la procedura seguita è stata la stessa. In entrambi, dunque, non si è proceduto all'isolamento corretto del virus in prima istanza.

Cosa avviene nel laboratorio (tratto da David Crowe)

Un'esemplificazione di quello che succede nei laboratori è riferita in un'analisi approfondita da David Crowe [64]. Riteniamo conveniente riportare ampi stralci dal suo prezioso elaborato, di cui comunque si raccomanda la lettura completa.

David Crowe a pag 12:

> ***La prova del test***
>
> *Un documento di Singapore condotto da medici e funzionari della sanità pubblica fornisce uno sguardo rivelatore sul reale meccanismo dei test COVID-19. Nascosto nel materiale di riferimento supplementare [65], dove poche persone lo vedranno, espone alcuni importanti problemi con i test:*
>
> *• Il test non è binario (negativo / positivo) e presenta una soglia arbitraria.*
>
> *• La quantità di RNA non è correlata alla malattia.*
>
> *• Se negativo significa non infetto e positivo significa infetto, le persone passano da infette a non infette e viceversa, a volte più volte.*
>
> *• I risultati al di sotto del valore soglia non vengono mostrati e vengono trattati come negativi, ma se la PCR continuasse oltre il valore soglia e alla fine fosse positiva, ciò indicherebbe la presenza di piccole quantità di RNA che è presumibilmente unico per COVID-19 (cioè infezione).*
>
> *Prima di leggere oltre la figura seguente, chiediti perché i primi 6 grafici, mostrati deliberatamente in ordine numerico, sono separati. Quali sono le differenze visive tra quei 6 e il resto? Fallo subito così la mia interpretazione non pregiudica la tua opinione."*

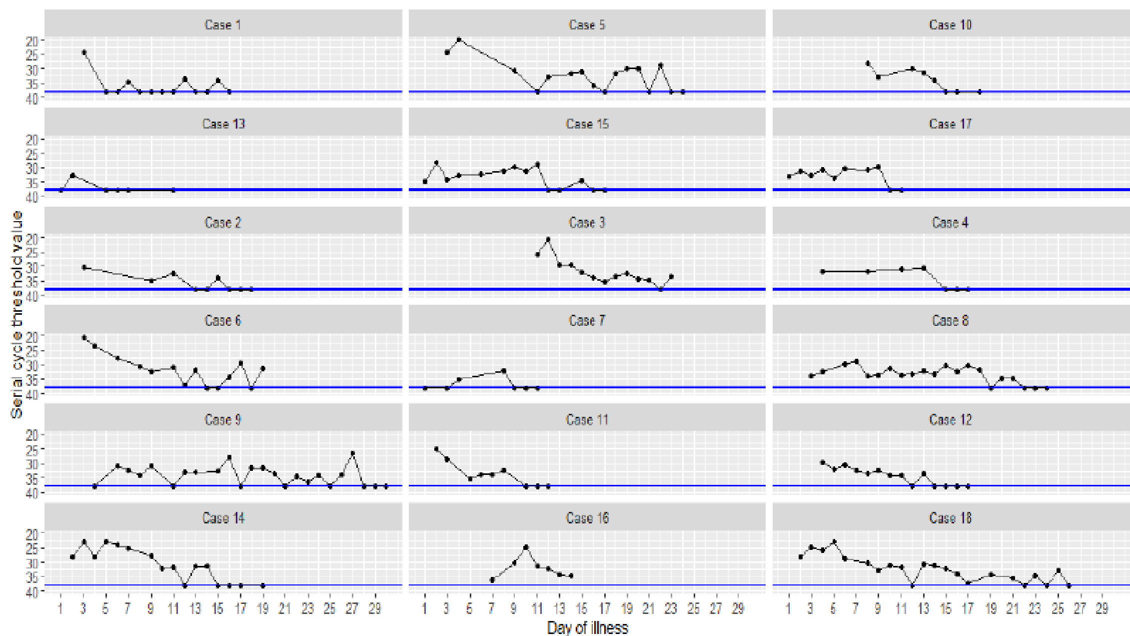


Figura 3. Grafico individuale dei valori di soglia dei cicli seriali per giorno di malattia per ciascun paziente. Tratto da Young BE et al. Materiale supplementare disponibile online.

[...]

David Crowe a pag 13:

"Ora ci sono le informazioni necessarie per comprendere i numeri da 20 a 40 sull'asse verticale dei grafici sopra. Questi sono il numero di cicli. Implica che ci sono sempre voluti almeno 20 cicli di PCR prima di poter rilevare qualsiasi RNA e si sono fermati dopo un massimo di 37 cicli. La linea blu è al ciclo 38 e i punti neri non significano che l'RNA è stato rilevato dopo 38 cicli (come chiarito nel documento), ma che non è stato rilevato da 37 cicli e quindi il processo è terminato. Questa "soglia del ciclo seriale (Ct)" era la definizione arbitraria di un risultato negativo dagli autori di riferimento [66]

Possiamo vedere che era arbitrario, perché in un altro documento [67]*, gli autori avevano due punti finali: 37 e 40. Qualunque cosa inferiore a 37 era considerata positiva e qualsiasi cosa 40 o maggiore veniva definita negativa. I valori intermedi di 38 e 39 hanno comportato un nuovo test. Si noti che questo articolo tratterà 37 come indeterminato, ma l'articolo di Singapore lo tratterà come positivo. In una revisione di 33 test approvati dalla FDA in condizioni di emergenza, in cui è stato raccomandato un limite del numero di cicli della PCR, esso è variato ampiamente. Ciascun produttore ha raccomandato 30 cicli, 31, 35, 36, 37, 38 e 39. 40 cicli sono stati i più popolari, scelti da 12 produttori e due consigliati 43 e 45. Le linee guida MIQE* [68] *raccomandano che i dati con 40 o più i cicli dovrebbero essere scartati e alcuni ritengono che 35 sia un cutoff migliore* [69]*. Tra gli altri problemi, la fluorescenza di fondo si accumula e può produrre un falso positivo con cicli sufficienti.*

Essere arbitrari non è l'unico problema con l'uso del numero di ciclo. I valori non sono comparabili tra i laboratori e varieranno all'interno di un laboratorio, specialmente se vengono apportate anche piccole modifiche al processo (come l'uso di tubi di plastica trasparenti anziché di plastica bianca). In un'intervista audio, il professor Stephen Bustin, esperto di RT-PCR, ha dichiarato che i cicli dovrebbero probabilmente essere limitati a 35 [70]*. Le linee guida MIQE per l'uso e la segnalazione di RT-PCR, di cui Bustin era membro, avverte che "i valori Cq [ciclo PCR]> = 40 sono sospetti a causa della bassa efficienza implicita e generalmente dovrebbero essere segnalati", in particolare avvertendo del rischio di falsi positivi* [71]*. Gli esempi di cui sopra hanno utilizzato 37 e 40 come limite superiore e un flusso di lavoro pubblicato dall'ospedale tedesco Charite Berlin, ha specificato 45 cicli* [72]*. Anche i test di Altona Diagnostics e Vitassay raccomandano 45 cicli. Una revisione di tutti i test approvati in base all'autorizzazione di emergenza dalla FDA degli Stati Uniti ha mostrato che un test ciascuno ha raccomandato che il positivo fosse considerato inferiore a 30, 31, 35, 36, 37, 38, 39 cicli, 12 consigliati meno di 40 e uno ciascuno raccomandato 43 e 45* [73].

David Crowe a pag 14:

La quantità di RNA non è correlata alla malattia

Ecco il momento di rivelare la differenza tra i primi sei grafici e i restanti dodici.

Teoricamente il numero di ciclo della PCR in corrispondenza del quale è rilevabile il DNA ci dice la quantità relativa di RNA. Qualunque sia la quantità iniziale necessaria per essere rilevabile nel 20° ciclo, 21 cicli sarebbero doppiamente sensibili (e potrebbero rilevarne una quantità iniziale di circa la metà) e 30 cicli circa 1000 volte tanto rispetto al 21° ciclo. Si potrebbe quindi aspettarsi che le persone più malate abbiano più virus, e quindi per avere un numero di ciclo inferiore sui test.

Questo è il motivo per cui gli autori hanno separato i primi sei grafici dai restanti dodici. I primi sei erano le persone che erano abbastanza malate da richiedere ossigeno. Ma si può chiaramente vedere dal grafico che le sei persone più malate non avevano quantità nettamente più elevate di RNA, o qualsiasi altra differenza consistente nel loro grafico del test. In un sondaggio condotto su persone positive all'RNA nel Guangdong, in Cina, gli scienziati hanno esaminato la "carica virale" (quantità di RNA) e ha concluso che "la carica virale rilevata nel paziente asintomatico era simile a quella nei pazienti sintomatici" [74].

Sulla base di queste conoscenze, si collocano le recenti fuorvianti dichiarazioni degli esperti italiani, che devono spiegare alla popolazione come mai un virus, tanto letale e diffusivo [75], in poche settimane abbia potuto trasformarsi in un timido agnellino [76], [77].

I risultati anomali sono la regola

Nel testo di Crowe sono riportati numerosi esempi di risultati anomali od inattesi, pubblicati nella letteratura scientifica. Per esempio:

David Crowe a pag 11:

> *"Scienziati cinesi hanno riferito che 29 su 610 pazienti in un ospedale di Wuhan hanno ottenuto 3-6 risultati dei test che sono passati tra Negativo, Positivo e 'Dubbio' (non definito, ma probabilmente significa un numero di cicli PCR tra positivo e negativo)* [78]*. Un paziente, ad esempio, ha avuto tre test negativi intervallati da due test positivi. Altri hanno avuto un risultato del test in ciascuna delle tre categorie"*.

La cronaca di ogni giorno è ricchissima di casi "strani": la positività di tigri [79], cani [80], gatti [81], capre e papaya [82] rende legittimo il sospetto che la PCR sia un esame dai risultati erratici. Val la pena controllare come ci si sia arrivati.

Come si fa a identificare esattamente le sequenze nucleotidiche virali? Si deve essere sicuri che provengano da quel virus. Deve esserci prima un indispensabile passaggio, cioè l'isolamento del "nuovo virus", il termine di paragone per eccellenza.

Isolamento virale (generalità)

Questo deve essere il primo passo, e consiste nella separazione del supposto virus da ogni altra cosa (dal latino *insulatum*). C'è una procedura precisa da seguire: la separazione per ultracentrifugazione in gradiente di densità con saccarosio. In breve: da una cultura cellulare presunta infetta si preleva il sopranatante e lo si centrifuga con tali modalità dopo averlo filtrato. Di lì si preleva il materiale che si è sedimentato in vari strati. In quello corrispondente ad una densità particolare, dovrebbero ritrovarsi le particelle cercate. Un campione prelevato da quello strato viene fissato e colorato negativamente su un particolare supporto per essere esaminato al microscopio elettronico. Lo si fotografa. La stessa operazione deve essere fatta con materiale prelevato da coltura del tutto uguale, ma sicuramente non infetta (controllo negativo).

Procedura di ultracentrifugazione in gradiente di saccarosio.

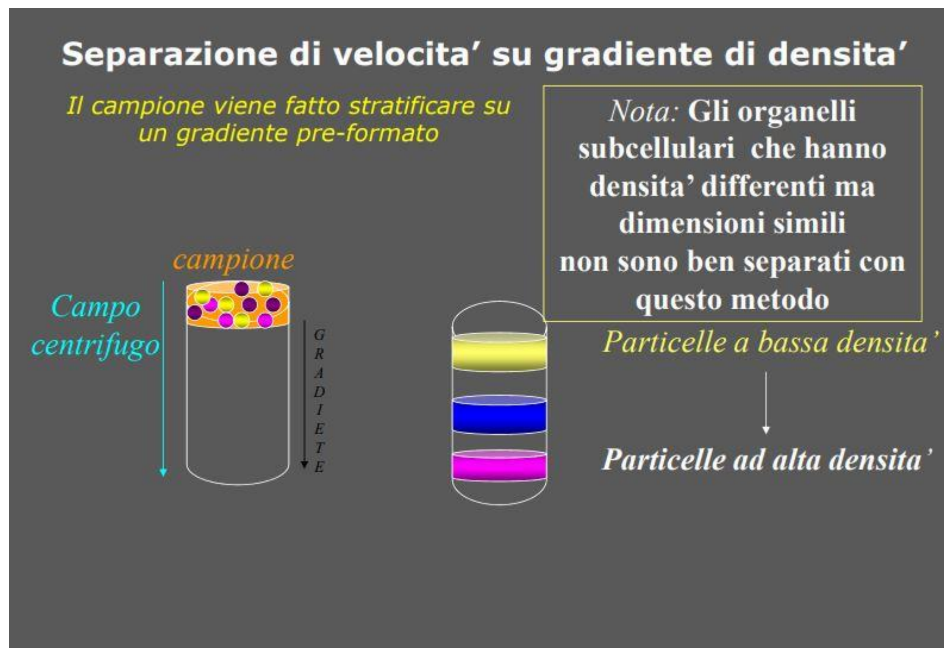


Figura 4. Separazione con centrifugazione su gradiente di densità.

L'ultracentrifugazione consente di ottenere risultati ottimali nelle seguenti applicazioni:

- Purificazione di proteine, oligomeri e complessi proteici
- Isolamento di lipoproteine
- Purificazione e separazione di virus e particelle virali
- Isolamento e separazione di frazioni subcellulari
- Preparazione di macromolecole mediante centrifugazione in gradiente di densità
- Purificazione di acidi nucleici (DNA, RNA)
- Purificazione di vescicole extracellulari (esosomi)
- Separazione di nanoparticelle

Figura 5: Applicazioni della ultracentrifugazione

Se, in questo modo, vengono identificate particelle delle dimensioni di un virus, tutte uguali, mentre nel controllo sono assenti, si procede con l'analisi più completa (di proteine costitutive, materiale genetico), analisi anche comparativa con virus conosciuti. Nello stesso modo si possono ricavare i reagenti usati per i test (sequenziamento genico, identificazione e produzione degli antigeni specifici per poi ricercare e produrree gli anticorpi).

Tutto quanto sopra per ribadire che la causa virale putativa deve essere PRIMA isolata (tanti elementi, tutti uguali, visti e fotografati) e poi analizzata. È logica elementare.

La sorpresa è che per il SARS-CoV-2 manca la prima parte di tale procedura. Nei lavori pubblicati sul SARS-CoV-2 non si trovano fotografie del virus *isolato*, se non di singoli elementi senza contesto. Si ritrovano anche fotografie di sezioni ultra sottili di tessuti dove si individuano agglomerati di piccoli cerchi che sono indicati con le frecce e chiamati particelle virali. Ammesso che lo siano, costituiscono meno del 10% del materiale cellulare che li circonda. Non si tratta propriamente di isolamento. Ma c'è di più: vi sono forti dubbi che quei piccoli cerchi siano Coronaviridae. Infatti hanno dimensioni variabili: il loro diametro è spesso di 65-70 nm, cioè inferiore al minimo previsto per i Coronavirus (120-160 nm) [83]. In verità altri autori riportano diametri diversi (100-160nm) [84], ma restano comunque fuori *range*. **Ed i virus sono caratteristicamente costituiti da pochi elementi fondamentali capaci di replicare copie identiche di sé stessi.** Insomma in biologia ... non sono previsti nè i giganti né i cuccioli di virus!

Se il diametro delle piccole sfere è inferiore del 30% rispetto alla particella singola, in volume esse lo sono di meno ancora, cioè si riducono ad 1/3 circa in volume. Se il diametro è superiore del doppio, allora il volume è oltre 6 volte maggiore. Il che non è possibile sia sostenuto: starebbe inevitabilmente a significare una differente composizione e struttura incompatibile con esseri che sono dotati di uguale e breve sequenza nucleotidica (perché appartenenti alla stessa specie).

Per la discussione, presentiamo innanzitutto una delle tante fantasiose ricostruzioni al computer che rafforza quel che sosteniamo: rivela la convinzione di tutti, esperti e non esperti, che il virus SARS-COV-2 sia costituito da particelle tutte uguali a sé stesse, come dovrebbe essere.

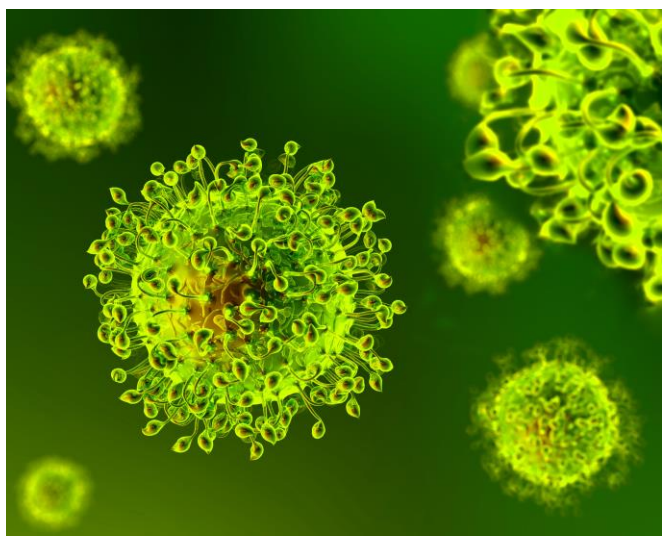


Figura 6. Coronavirus immagine disegnata al computer

Ora esaminiamo per confronto il Coronavirus ritenuto responsabile della SARS (malattia epidemica comparsa in Oriente nel 2002 e sparita nel 2004, per la quale era stato imputato un Coronavirus [85]): le dimensioni e l'aspetto corrispondono

alla descrizione. Il diametro, escluse le spikes (peplomeri od estroflessioni), è di circa 100 nm.

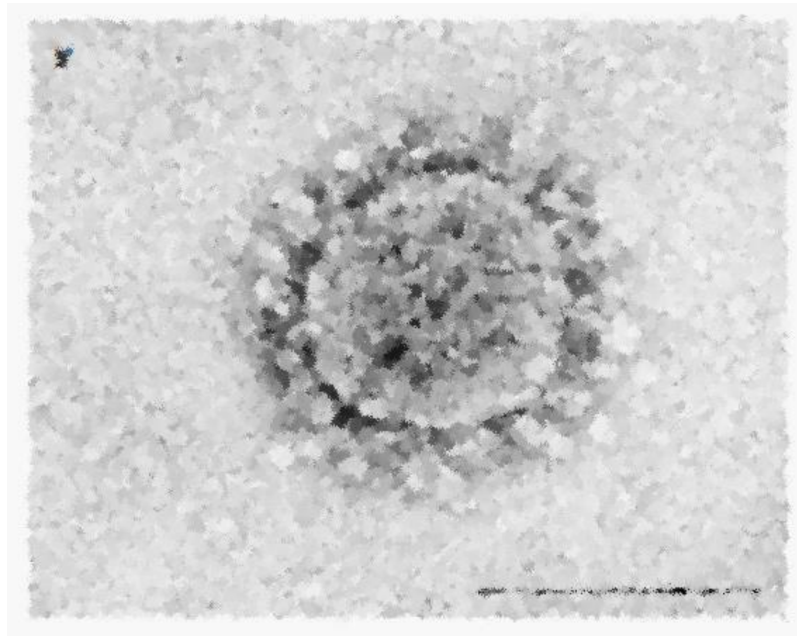


Figura 7. Ksiazek TG et al. Ultrastruttura caratteristica dle Coronavirus associato alla SARS coltivato in cellule Vero E6.

Un Coronavirus di pippistrello, simile a quello della SARS umana (malattia comparsa nel 2003 e sparita nel 2004), è stato "isolato" e così presentato sulla rivista Nature [86]; assomiglia al precedente, ma ha forme più irregolari e dimensioni leggermente maggiori (167 x 200 nm):

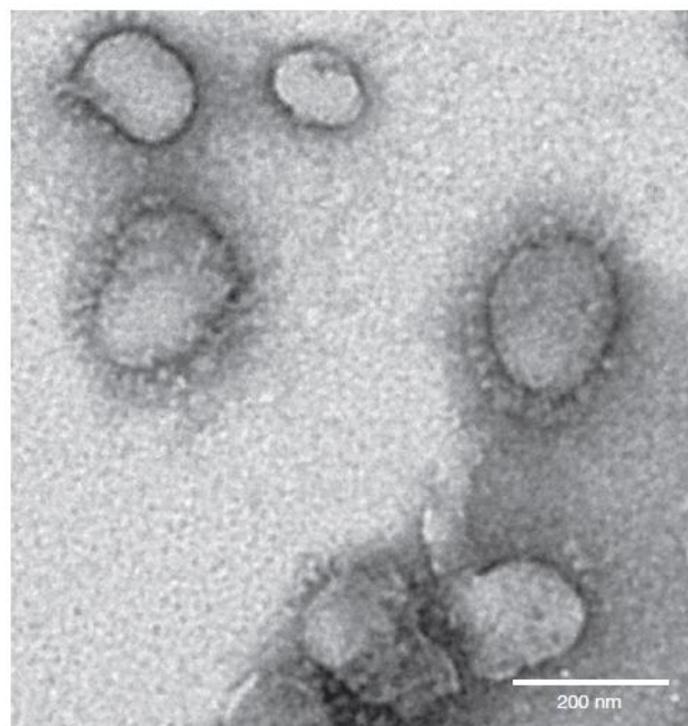


Figura 8. Xing-YiGe et al. Micrografia elettronica di virioni purificati raccolti, fissati e concentrati/purificati con centrifugaizone in gradiente di saccarosio

Asseriti isolamenti del SARS-CoV-2

A) Il SARS-CoV-2, la cui foto è stata pubblicata sul N Eng J Med quest'anno [87], ha invece un aspetto diverso e le dimensioni pure:

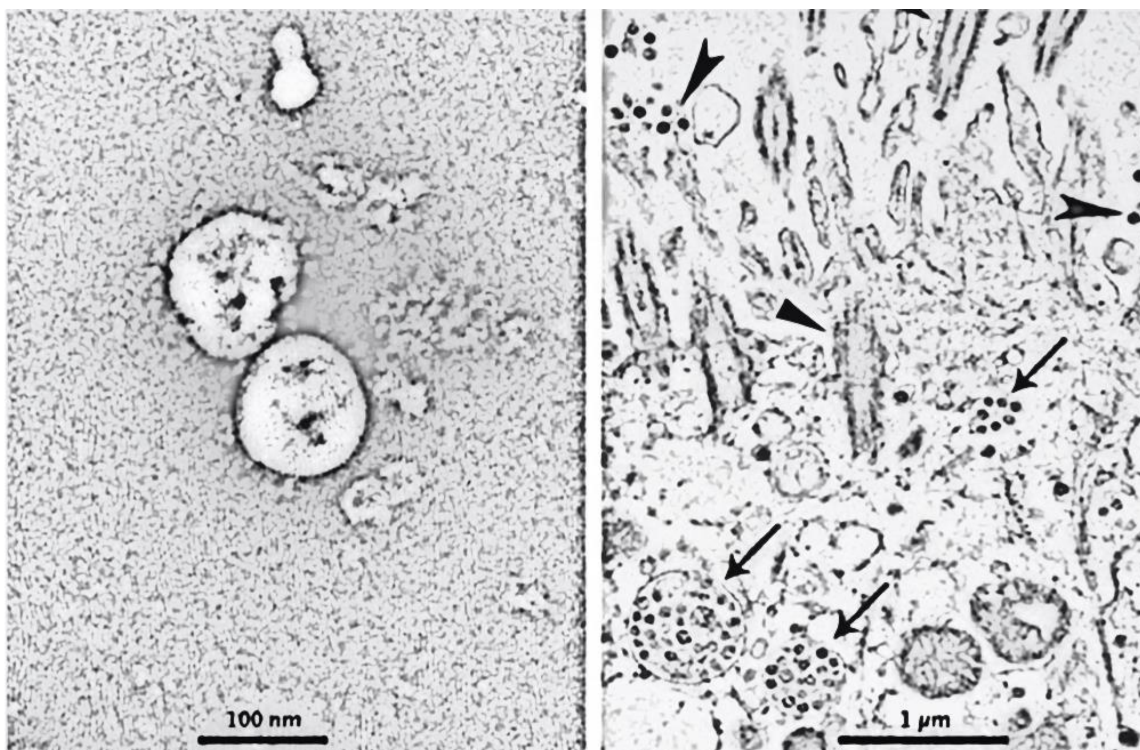


Figura 9a e **9b.** Zhu N et al. Visualizzazione del nCoV-2019 con il Microscopio a Trasmissione.

I due elementi nella foto di sinistra corrispondono nei diametri a quelle di un ipotetico Coronavirus (attorno a 100 nm, escluse le spikes che non son ben visibili). Viceversa le piccole particelle divise in gruppi sulla destra sono apparentemente troppo piccole per essere di SARS-CoV-2. Quel che è notevole è che le formazioni rotondeggianti nella foto a destra non hanno le dimensioni di quelle nella foto a sinistra pur trattandosi asseritamente degli stessi SARS-CoV-2 del medesimo studio! Il materiale presunto infetto (liquido da lavaggio bronchiale) proveniva da 1 dei 3 pazienti. Non vi è accenno all'esame al microscopio elettronico di sopranatante da colture cellulari di controllo.

L'immagine più sotto è l'ingrandimento della parte inferiore della figura 9b per permettere una misurazione facilitata.

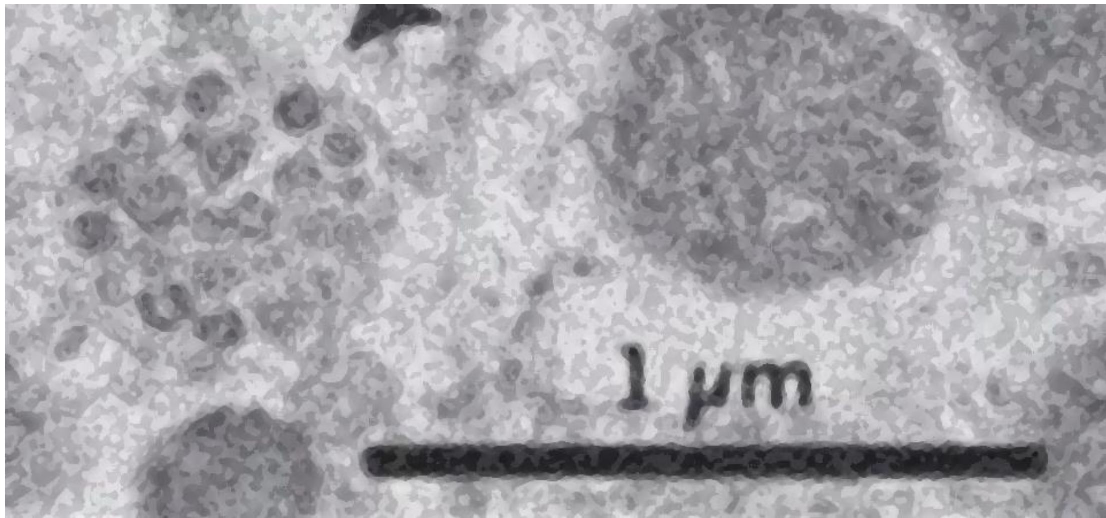


Figura 10. Zhu N et al. Visualizzazione del nCoV-2019 con il Microscopio a Trasmissione (ingrandimento della figura 9 parte destra.

Come si può controllare con un software di misurazione su schermo [88], le particelle sono di circa 65-75 nm di diametro, tranne una che è di 100 nm.

B) Lo stesso può essere osservato sulla foto pubblicata su Nature [89] (dimensioni delle "particelle virali": in media 67 nm di diametro, range 48-90):

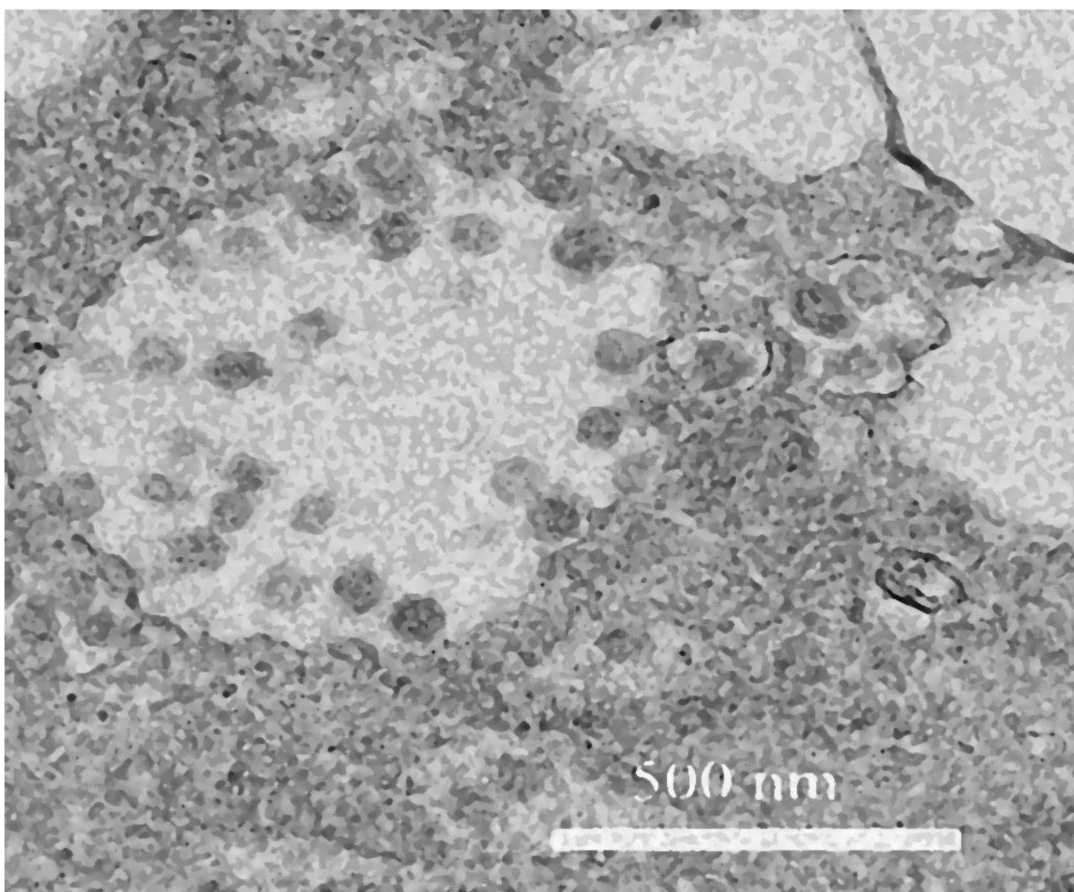


Figura 11. Isolamento del 2019-nCoV. Vengono mostrate le particelle virali in un vacuolo intra citosolico. Le particelle virali nelle sezioni ultrasottili vennero

fotografate con il microscopio elettronico a 200 kV. Il campione proveniva da cellule infette Vero E6.

Queste sopra sono con tutta probabilità le foto più rappresentative che son riusciti a scattare.

Perciò il dubbio sull'origine di tali riscontri fotografici progressivamente si rinforza.

C) Su Nature è stato pubblicato il 7 maggio uno studio che vanta la dimostrazione del nesso causale tra SARS-CoV-2 e COVID-19 con un articolato esperimento su dei topi [90].

Tuttavia molte sono le critiche possibili, per esempio:

1) gli autori danno per scontato che la causa sia stata dimostrata in due precedenti pubblicazioni che citano. In una di queste, già qui discussa, li smentisce, infatti è esplicitamente ammesso che i loro riscontri non erano decisivi ("*non sono stati soddisfatti i postulati di Koch*") [91]. Nell'altro lavoro [92] l'immagine di una singola particella (supposta virale), è molto differente come dimensioni, essendo il diametro di circa 75 nm, e non c'è nessuna dimostrazione di isolamento di particelle virali.

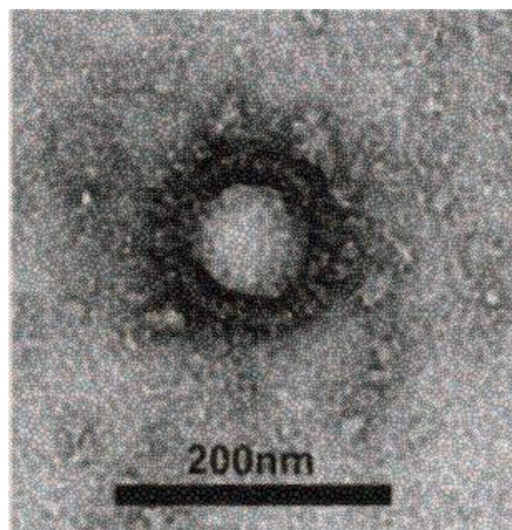


Figura 12. Ren et al. Identificazione ed isolamento virale. Micrografia elettronica.

2) i topi sono stati divisi in tre gruppi: uno di suscettibili, "infettato" con il SARS-CoV-2; uno di suscettibili infettati con "virus finto" (mock virus); uno di non suscettibili, infettati con il SARS-CoV-2. l "virus finto" corrisponde a gocce di PBS (tampone fosfato salino).

In ognuno dei tre gruppi di topi, di cui due di controllo, solo alcuni individui hanno presentato sintomi modesti (il pelo irto e non altro), e le descrizioni anatomopatologiche si sono limitate ai topi suscettibili infettati, mentre i topi di controllo non avevano dimostrato alcuna alterazione. Non si comprende di quale patologia soffrissero i topi sintomatici dei gruppi di controllo, né se vi fossero

differenze, nel gruppo dei suscettibili infettati, tra sintomatici e non. Poco comprensibile anche come mai topi affetti da grave compromissione polmonare non abbiano manifestato sintomi rilevanti: "*non furono trovati altri sintomi clinici come la schiena arcuata e una risposta diminuita a stimoli esterni*" (con l'eccezione di una perdita di peso per i topi infetti, ammalati ed arrivati vivi al 14° giorno). Al giorno 1, 3, 5, 7 dopo l'infezione, sono stati sacrificati ogni volta 3 animali per ogni gruppo. Questo significa che alterazioni nel gruppo suscettibile infettato, (riscontri autoptici di grave patologia polmonare) sono stati ritrovati in topi che non avevano alcun sintomo, secondo quanto scritto dagli autori (7 in tutto i topi con sintomi in tale gruppo e, di questi, 7 arrivati al 14° giorno). Non è facile comprendere.

3) il virus non è stato isolato secondo la procedura corretta, ed esposta in precedenza in questo scritto. La fotografia al microscopio elettronico mostra un cerchio di diametro doppio di quello massimo consentito per un Coronavirus e triplo o quadruplo rispetto a quelli riportati nei lavori citati in questo testo. Eppure si sostiene che si trattava del medesimo virus.

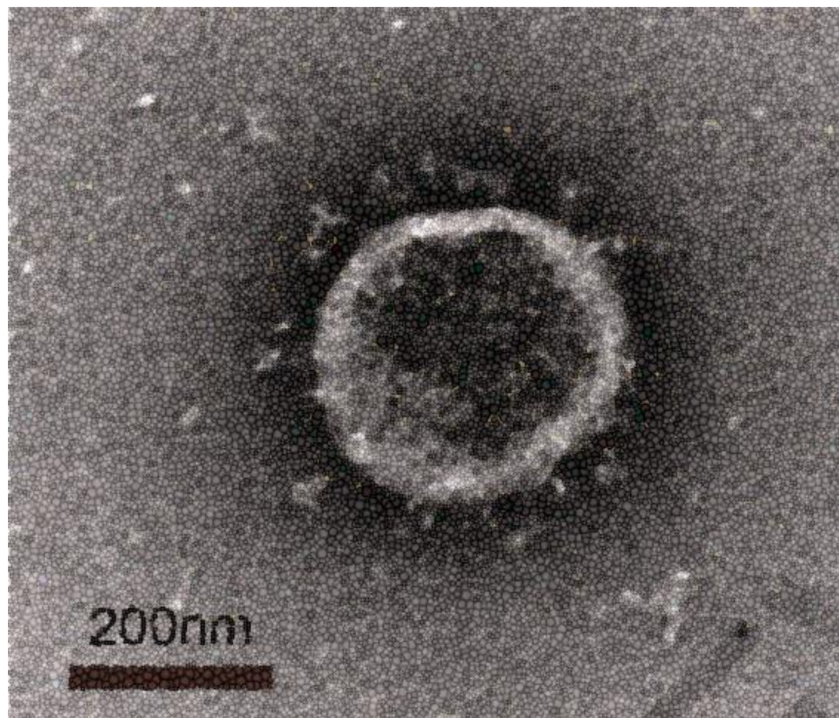


Figura 13. Bao et al. Il virus isolato dai polmoni dei topi ACE2-HB-01 fu osservato al microscopio elettronico.

D) Nella pubblicazione di Caly et al.[93] viene "isolato" il SARS-CoV-2 da un solo paziente. Anche qui mancano fotografie elettroniche da colture non infette di controllo e comunque non c'è stato un corretto isolamento. Le particelle nella parte destra dell'immagine sono del 20% più piccole di quella singola a sinistra. Sono altro.

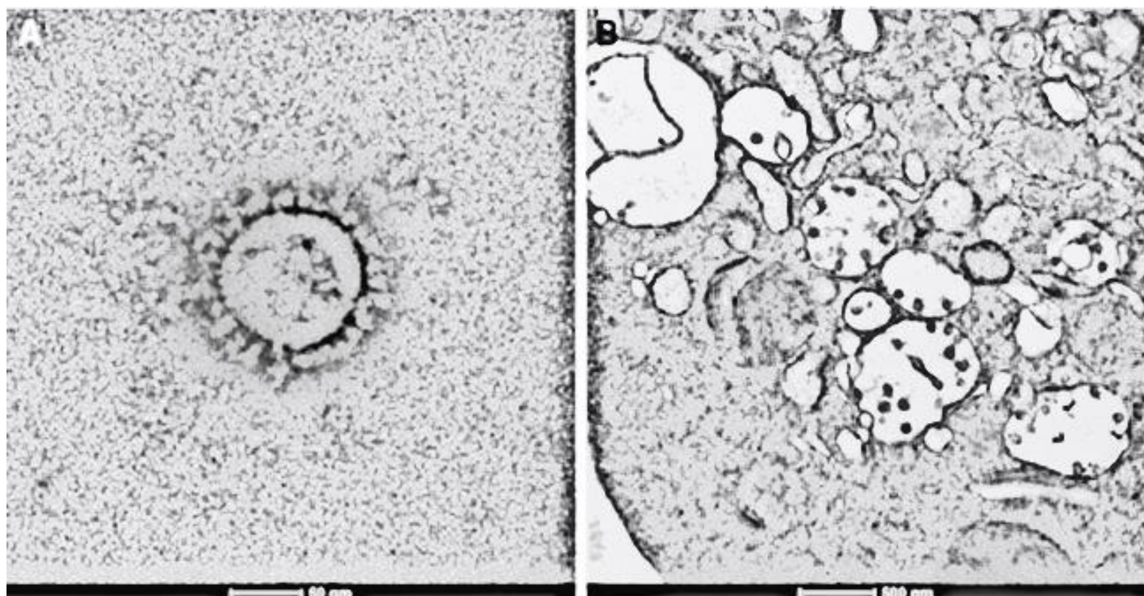


Figura 14. Caly L et al. Electron micrographs of cell culture supernatant. **A.** 100 nm spherical virion displaying the characteristic crown-like fringe of spike proteins.
B. Sezioni infettate di VERO/hSLAM con vescicole legate alla membrana conteneti virus.

Ulteriore prove a dimostrazione dell'incertezza interpretativa

Tre lavori hanno recentemente pubblicato fotografie elettroniche di coronavirus in malati di COVID-19. Val la pena esaminarle perché sono state contestate da altri ricercatori:

A) Su H et al. Particelle simil-Coronavirus [94]

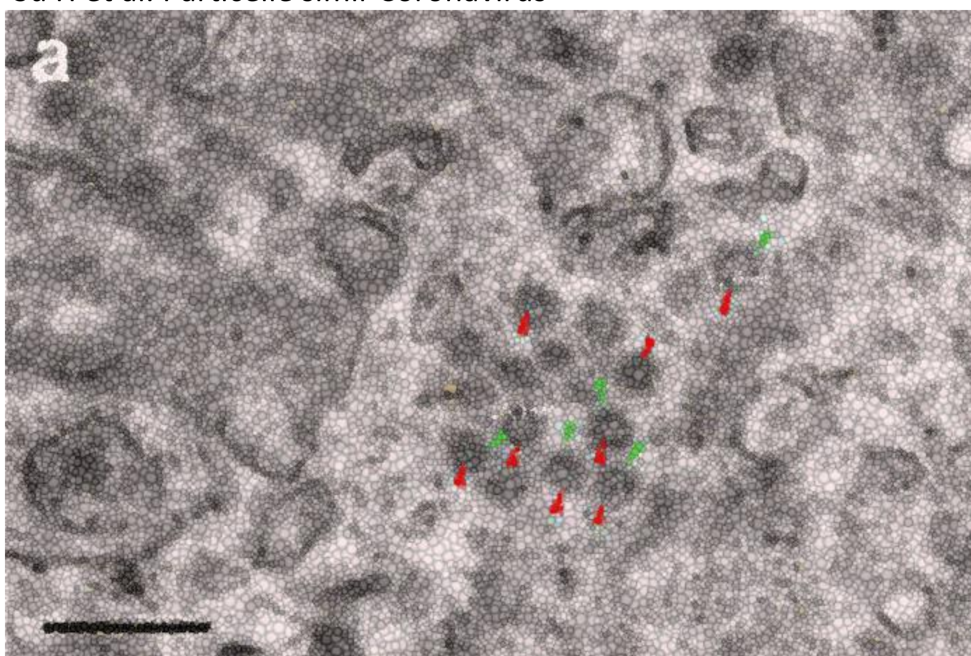


Figura 15a. Su H et al. Particelle simil-Coronavirus (frecce rosse) con estroflessioni distintive (frecce verdi) erano presenti nel citoplasma dell'epitelio del tubulo prossimale.

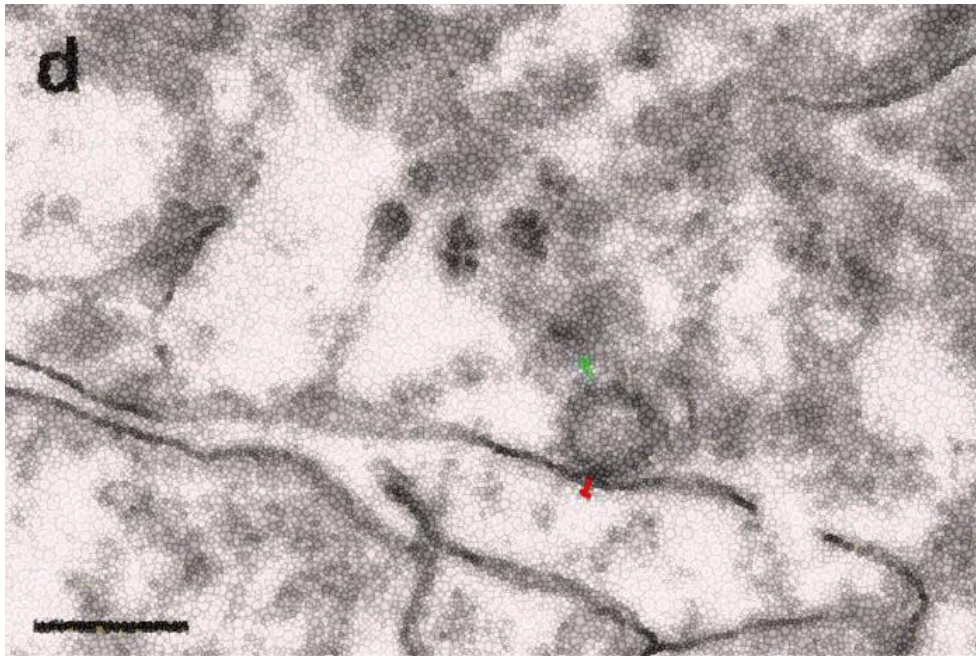


Figura 15b. Su H et al. Particelle simil-Coronavirus (frecce rosse) con estroflessioni distintive (frecce verdi) erano presenti nel citoplasma dell'epitelio del tubulo distale.

Tuttavia esperti microscopisti elettronici hanno contestato che quelle immagini potessero rappresentare il SARS-CoV-2 [95] :

> *"Queste strutture non sono particelle virali, ma piuttosto vescicole rivestite di clatrina,* ***normali organelli cellulari coinvolti nel trasporto intracellulare.*** *Gli oggetti nella loro Figura 2a e b (w 60 nm) sono leggermente più piccoli dei coronavirus (da w80 a 140 nm), ma, soprattutto, le loro "estroflessioni" (peplomeri) sono in contatto con il citosol, come quelli delle vescicole rivestite di clatrina*".

Gli Autori Sun et al hanno così risposto:

> *"Siamo d'accordo con il punto di vista di Miller e Brealey e riconosciamo che ci sono difficoltà intrinseche nella discriminazione delle vescicole cellulari dalle particelle virali esclusivamente da prove morfologiche, specialmente nella normale elaborazione EM dei tessuti autoptici."*
>
> *"Pertanto abbiamo prudentemente modificato la descrizione nella versione prestampata del nostro articolo di "particella virale" in "particella simil-coronavirus".*

B) Kissling S et al. Studio di microscopia elettronica. [96]

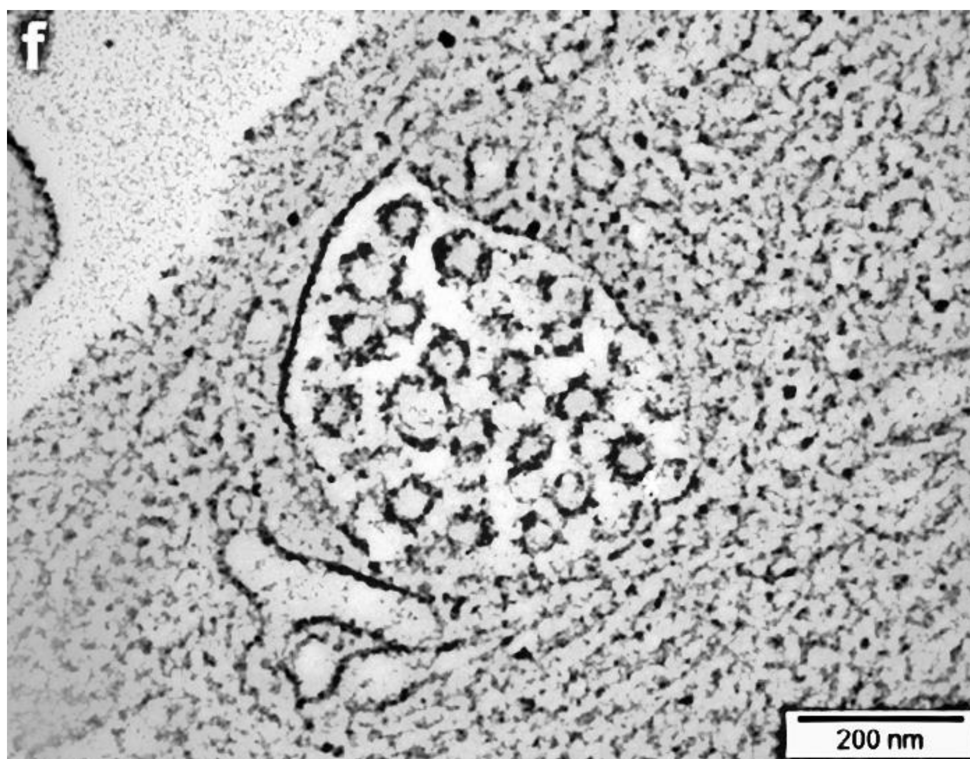


Figura 16. Kissling S et al. Studio di microscopia elettronica. Vacuoli citoplasmatici contenenti numerose particelle sferiche.

La critica [97] al lavoro B) sopracitato da parte degli stessi ricercatori, è la seguente:

> *"[...],* ***le particelle in Kissling et al. non sono coronavirus.*** *Mentre sono all'interno di un vacuolo, hanno estroflessioni e hanno approssimativamente le dimensioni corrette, non hanno l'aspetto uniforme delle particelle di virus con una copertura esterna della membrana e punti all'interno che indicano il nucleocapside.*
>
> *"Queste microfotografie non supportano l'affermazione che le particelle sono effettivamente virus."*

Gli autori del lavoro criticato hanno ammesso le incertezze interpretative [98], nonostante a parer loro per dimostrare che le particelle siano o no del SARS-CoV-2 bisognerebbe marcarle con anticorpi specifici. Anticorpi specifici che non ci sono, visto che per questi non è nota la specificità reale (vedi le sezioni precedenti di questo elaborato). Il cane che si morde la coda:

> "*Riconosciamo anche le nostre incertezze riguardo alla natura esatta delle particelle nel podocita osservate nella biopsia renale del nostro paziente ed eravamo cauti nell'interpretazione di questi risultati. A seguito dei commenti di Miller e Brealey, abbiamo modificato la nostra lettera prima della sua pubblicazione finale sul Journal per sottolineare ulteriormente che queste particelle possono corrispondere a entità non virali. Tuttavia, le particelle rilevate nella biopsia del nostro paziente* ***sono piuttosto simili*** *a quelle della sindrome respiratoria acuta grave coronavirus riportata nella prima documentazione (Zhu et al, figura 10). Inoltre,* ***l'aspetto delle inclusioni virali intracellulari sembra essere abbastanza variabile da una***

pubblicazione all'altra*"*. A nostro avviso, rimane quindi possibile che le particelle osservate nel nostro paziente siano di origine virale.* ***la prova definitiva della presenza di inclusioni virali nelle cellule richiede un'immunocolorazione con anticorpi specifici*, sia nelle cellule in coltura che nei campioni di tessuto.*

C) Varga Z et al. Microscopia elettronica del tessuto renale [99]

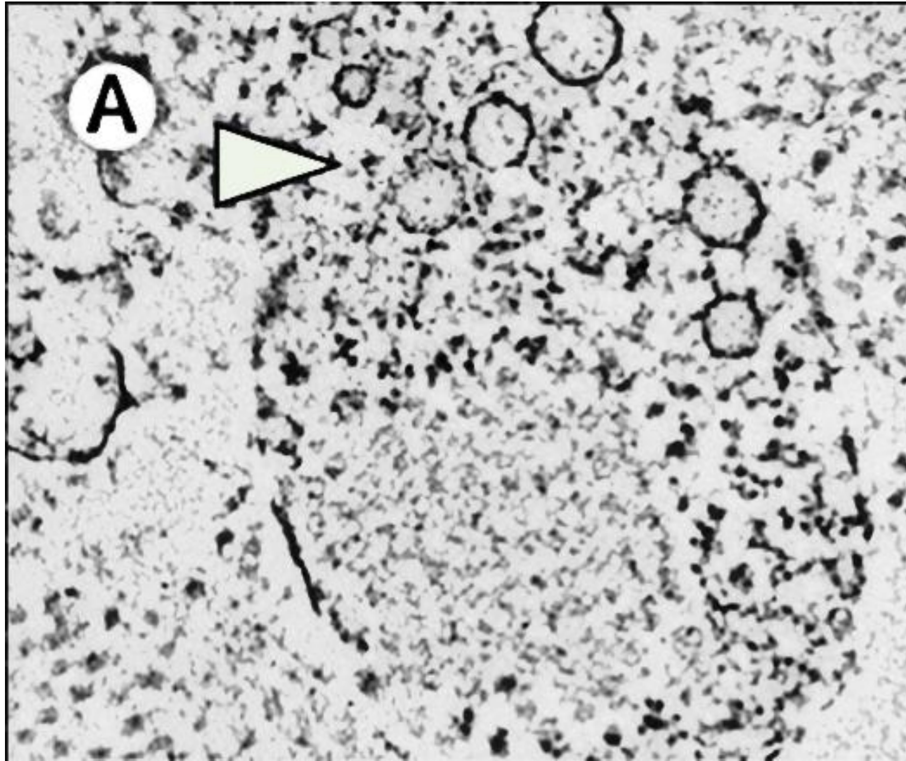


Figura 17a Varga Z et al. Microscopia elettronica del tessuto renale mostra corpi d'inclusione virale nello spazio peritubulare nelle cellule endoteliali delle anse capillari glomerulari

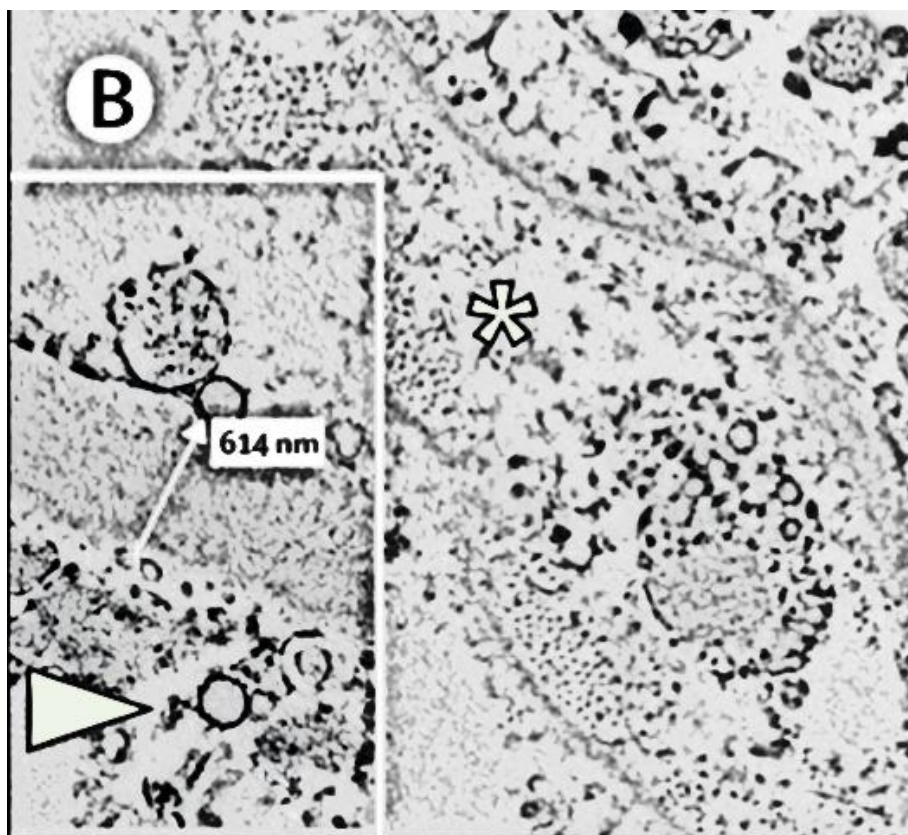


Figura 17b. Varga Z et al. Idem

Tali immagini non sono state riconosciute come di particelle virali da parte di Goldsmith et al [100] che hanno obiettato:

> *"Tuttavia, riteniamo che le immagini EM nella corrispondenza non mostrino particelle di coronavirus ma mostrino invece sezioni trasversali del **reticolo endoplasmatico rugoso** (RER).*
>
> *Queste strutture sferiche sono circondate da punti scuri, che potrebbero essere stati interpretati come estroflessioni su particelle di coronavirus ma **sono invece ribosomi.**"*

Per corroborare il loro argomento, i ricercatori dei CDC hanno pubblicato l'immagine di particelle da loro ritenute virali al di là di ogni dubbio (figura 18):

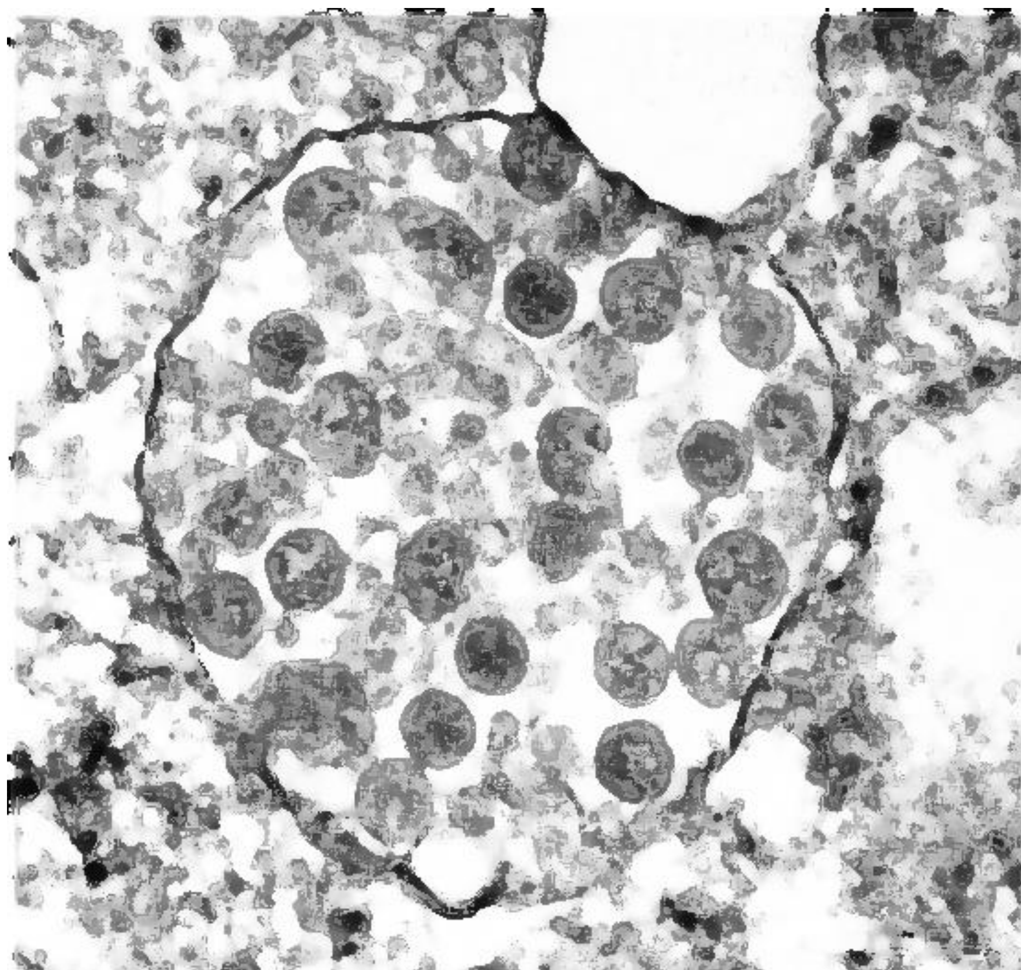


Figura 18 Goldsmith Cs, Miller SE et al. Isolato virale cresciuto in coltura cellulare. Particelle di coronavirus sferiche con sezione attraverso i nucleocaside, visti come punti nei, sono raggruppati entro una membrana che le separa dal citoplasma.

Tuttavia uno degli Autori (Miller), aveva poco tempo prima precisato che i virus dovevano avere un diametro maggiore (80-140nm) [101], seppur inferiore a quello indicato dal Comitato Internazionale sulla Tassonomia dei Virus [102]. Ne deriva che queste particelle, presentate come virus "garantiti" nella fotografia inserita nella corrispondenza, avendo un diametro (65-78nm) inferiore a quello consentito ad un coronavirus, devono essere qualcos'altro, secondo i loro stessi criteri.

Insomma la microscopia elettronica è molto insidiosa e non può essere considerata neanch'essa un riferimento sicuro. Miller contro Miller.

Considerazioni riassuntive sull'isolamento virale

Se il virus non è stato isolato, ed il test preparato senza l'isolamento, allora gli stessi reagenti utilizzati (antigeni e filamenti di RNA) potrebbero avere altra origine. Nel più ottimistico dei casi possibili, cioè che le particelle di cui alle figure 9b, 11, 14b, 15a, 15b, 16, 17a e 17b, 18, all'interno dei vacuoli siano proprio di "SARS-COV-2", allora il materiale da cui derivano i test sarebbe costituito per

oltre il 90% da materiale cellulare, in cui si troverebbero frammisti. Insomma, se le cose stanno così, non c'è alcuna garanzia che il test sia affidabile ed abbia il significato che gli viene attribuito.

Si vuole intendere che il processo di dimostrazione è completamente inaffidabile. D'altronde molti si sono accorti della frettolosità con cui è stata utilizzata la procedura [103], [104], ed hanno segnalato la discordanza dei risultati con la clinica [105]. Le ottime sensibilità e specificità vantate dai produttori dei test [106] stridono fortemente con con quelle assai scarse riscontrate "sul campo". Si tratta di un aspetto pratico che va a minare quello teorico.

Detto in altro modo, non c'è alcun motivo perché il virus asseritamente presente in gran quantità nelle colture cellulari non possa essere visto e fotografato nella forma di un tappeto di particelle virali tutte uguali, dopo ultracentrifugazione e concentrazione. Perché non c'è? Per una questione di tale importanza mondiale è lecito richiedere la massima sicurezza. Il fatto che Autori indipendenti pubblichino foto di particelle di dimensioni ed aspetto notevolmente differenti, e le chiamino tutte "SARS-CoV-2" dovrebbe spingere a riconsiderare il tutto.

Possibili significati del test

La RT-PCR per il SARS-CoV-2 non è stata validata [107], [108], non è standardizzata [109], sembra dare numerosi falsi positivi e falsi negativi [110], [111], [112].

Quindi una positività ad esso e la presenza di particelle similvirali potrebbe essere indice di: 1) un risultato erratico di un test cervellotico, 2) una cross reattività, 3) presenza di un nuovo virus passeggero, sia esso innocuo od opportunista, 4) presenza di materiale reattivo di origine cellulare; 5) particelle di origine cellulare, contenenti catene nucleoidiche, chiamati esosomi. Gli esosomi hanno caratteristiche compatibili con quanto è stato trovato, sia per struttura che per contenuto di materiale genetico. Il dott. Andrew Kaufman ha considerato ed illustrato questa possibilità [113]. Gli esosomi possono essere ritrovati in situazioni di stress [114], formate da cellule staminali [115], in caso di sovraccarico cardiaco [116], in caso di cancro [117], indotta da antibiotici (antibiotici sono aggiunti sempre alle colture cellulari virali) [118]. NB Streptomicina: antibiotico di un tipo non efficace contro i Mycoplasmi!

Una negatività del test può essere presente in individui che avrebbero tutte le caratteristiche cliniche ed epidemiologiche per essere considerati infetti. Perciò alle volte i test sono stati ripetuti anche 6 volte prima di ottenere i risultato "desiderato" [119] , un tanto sembra sia avvenuto anche nel caso dello stesso medico eroe di Wuhan, Li Wenliang [120].

Come spiegare l'epidemia

Se il test è invalido, come si spiega allora tutto quel che è successo? Può essere spiegato con: a) un'epidemia di test (più test si fanno, più test risultano positivi), b) un aumento della mortalità invernale che ha colpito come ogni anno le fasce più deboli (anziani e soggetti con più patologie di base), c) riclassificazione delle diagnosi, d) inadeguatezza del nostro sistema ospedaliero per riduzione personale e posti letto (all'inizio dell'anno) e) fattori molteplici non infettivi ed

infettivi, compresi i coronavirus normalmente circolanti specie nella stagione fredda. Tali fattori finora sono stati trascurati colpevolmente [121]. Vi ha certamente contribuito anche un'alterata presentazione delle statistiche, ed un approccio medico non ottimale [122]. Anche la paura di una malattia mortale ha svolto un ruolo pesante sia per chi ne è stato direttamente colpito, sia per gli operatori sanitari.

Conclusione

Noi certamente non vogliamo fare nostra l'affermazione scioccante di David Icke: "*there is no COVID-19, it doesn't exist*" [123], ma riteniamo che la teoria virale dell'epidemia sia largamente deficitaria e perciò necessiti di una revisione totale. Il criterio diagnostico della COVID-19 è forse in grado di identificare quasi tutti i casi di polmonite interstiziale epidemica durante questa pandemia? No, per almeno il 30%-50% dei casi. Può tale diagnosi essere effettuata anche a persone del tutto asintomatiche ed in pieno benessere? Sì, in un numero oltre 10 volte maggiore dei casi di malattia lieve o grave. Ha potuto tale diagnosi essere posta come causa di morte anche in presenza di altre patologie talmente gravi da essere in realtà esse stesse causa di morte? Sì, è stato fatto così molto frequentemente, in presenza di RT-PCR positiva su tampone. Può il test identificare con sicurezza i soggetti malati e/o contagiosi? Certamente no; numerosissimi sono i casi di alternanza di positività e negatività "inspiegate" e casi di positività avulsi dalla realtà. Ha potuto la teoria effettuare previsioni che siano state rispettate? No, la maggior parte delle previsioni sono fallite di gran lunga. Ci son stati meno casi e meno morti in quei Paesi dove non hanno attuato il lockdown (i.e. Giappone e Svezia) che nel nostro dove è stato imposto. Le previsioni del comitato tecnico italiano sono andate di gran lunga fuori misura. Questi fallimenti obbligano a ricorrere a spiegazioni di fantasia allo scopo di non dover ammettere le debolezze teoriche (per esempio: improvvisamente in Italia – nel giro di poche settimane – tutti i virus italiani avrebbero deciso contemporaneamente di cambiare abitudini: sarebbero "diventati benigni" e "non più tanto contagiosi", salvo futuri ripensamenti). Possono i test anticorpali rispecchiare fedelmente una infezione attuale, recente, passata? No. I test non sono mai stati validati, perciò i risultati sono così erratici. Tanto erratici e discordanti tra loro che è impossibile stabilire la prevalenza della supposta malattia nella popolazione. Ed infine: è stato isolato il virus SARS-CoV-2? No, la dimostrazione sta negli stessi lavori che pretendono di averlo fatto. Le fotografie sono state scattate a "oggetti" notevolmente differenti tra loro e non al virus isolato.

La teoria virale della epidemia di COVID-19 è falsificata in ogni suo aspetto.

Riconoscimenti

Ho scritto una prima versione di questo lavoro e l'ho pubblicata il 3 aprile 2020 in italiano, indipendentemente da altri lavori che sono stati pubblicati in quegli stessi giorni (poco prima in verità) e che arrivano a simili considerazioni e

conclusioni. Mi riferisco ai già citati David Crowe e Andrew Kaufman. Di questi consiglio la lettura perché ampliano molto la trattazione, sviscerando anche altri aspetti da me trascurati. Il fatto che certe argomentazioni siano condivise da altri, rafforza notevolmente le tesi che sono esposte.

Ritengo giusto però affermare che, se questi miei argomenti hanno un valore, lo devo al lavoro ed agli insegnamenti di Peter Duesberg, e soprattutto del "Gruppo di Perth" (Eleni Eleopulos Papadopulos e Valendar Turner: li considero i miei punti di riferimento per l'immenso contributo portato avanti e mai smentito sull'HIV-AIDS). Li ho conosciuti, ho collaborato con essi anche se molto marginalmente, ed a loro va la mia riconoscenza.

Voglio dedicare questa mia elaborazione a Luigi De Marchi, guida, amico ed alleato: un omaggio alla sua memoria. Sarebbe stato tutto più facile con lui presente ed attivo.

Bibliografia

[1] Wuhan Municipal Health Commission. Press statement related to novel coronavirus infection (in Chinese) http://wjw.wuhan.gov.cn/front/web/showDetail/2020012709194 (2020).

[2] Zhou P et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 2020;579:270-3.

[3]

OMS: Definizione del caso ai fini di sorveglianza 18/02/2020

Caso sospetto che richiede test diagnostici (da non segnalare a livello europeo)

Pazienti con infezione respiratoria acuta (insorgenza improvvisa di almeno uno dei seguenti: tosse, mal di gola, respiro corto) che richiedono il ricovero o meno

INOLTRE

Nei 14 giorni precedenti l'insorgenza dei sintomi, è stato soddisfatto almeno uno dei seguenti criteri epidemiologici:

• Erano in stretto contatto con un caso confermato o probabile di infezione da SARS-CoV-2;

OPPURE

• Aveva una storia di viaggi in aree con presunta trasmissione in corso della comunità;

OPPURE

• Ha lavorato o frequentato una struttura sanitaria in cui venivano trattati pazienti con infezioni da SARS-CoV-2.

[4]

OMS: Definizione del caso ai fini di sorveglianza 18/02/2020

Caso probabile

Un caso sospetto per il quale il test per SARS-CoV-2 è inconcludente (il risultato del test riportato dal laboratorio) o per il quale il test è risultato positivo su un test di pan-coronavirus.

Caso confermato

Una persona con conferma di laboratorio dell'infezione da SARS-CoV-2, indipendentemente da segni e sintomi clinici

[5] The Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Response Epidemiology Team. The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) — China, 2020. Chinese Center for Disease Control and Prevention CCDC Weekly.2020;2(8): 113-122.

[6] Robert Koch Institute Wie werden Todesfälle erfasst? [retrieved on May 15, 2020] https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/NCOV2019/gesamt.html

> *"Stando ai calcoli di Amburgo pare che li ci siano meno morti per coronavirus rispetto ai calcoli fatti dall'istituto Robert Koch: 8 mercoledi scorso secondo la città-stato. Nella statistica ufficiale del Robert Koch Institut erano invece 14. La cosa si spiega cosi: nella statistica del RKI finiscono tutti i casi di morte, nei quali viene riscontrato il virus Sars-CoV2. Amburgo conta invece solo i casi, in cui le persone siano morte a causa del covid. In caso di morte con test positivo al coronavirus le salme vengono mandate alla medicina legale, per scoprire la causa di morte: era COVID? "*

[7] ISS. Report sulle caratteristiche dei pazienti deceduti positivi a COVID-19 in Italia Il presente report è basato sui dati aggiornati al 13 Marzo 2020

[8] ISS. Caratteristiche dei pazienti deceduti positivi all'infezione da SARS-CoV-2 in Italia. Dati al 11 giugno 2020. *Età media die deceduti 80 anni, età mediana 82.*

[9] Alessandro Bonsignore (presidente OMCEO Liguria): https://www.youtube.com/watch?v=jPH0IRupRZw

[10] Scoglio Stefano. https://drive.google.com/open?id=1LAlsV-rWDh1HiFKJCtByImLrxj2Xi9lZ

[11] http://blog.ilgiornale.it/locati/2020/03/24/unepidemia-con-dati-poco-affidabili-le-proposte/

[12] http://blog.ilgiornale.it/locati/2020/05/17/oltre-il-covid-19-troppe-morti-inspiegabili/

[13] Zhu N et al. A novel Coronavirus from patients with Pneumonia in China, 2019. N Engl J Med 2020;382:727-33. DOI: 10.1056/NEJMoa2001017.

> *"Sebbene il nostro studio non soddisfi i postulati di Koch, ...*

[14] Postulati di Koch-Henle

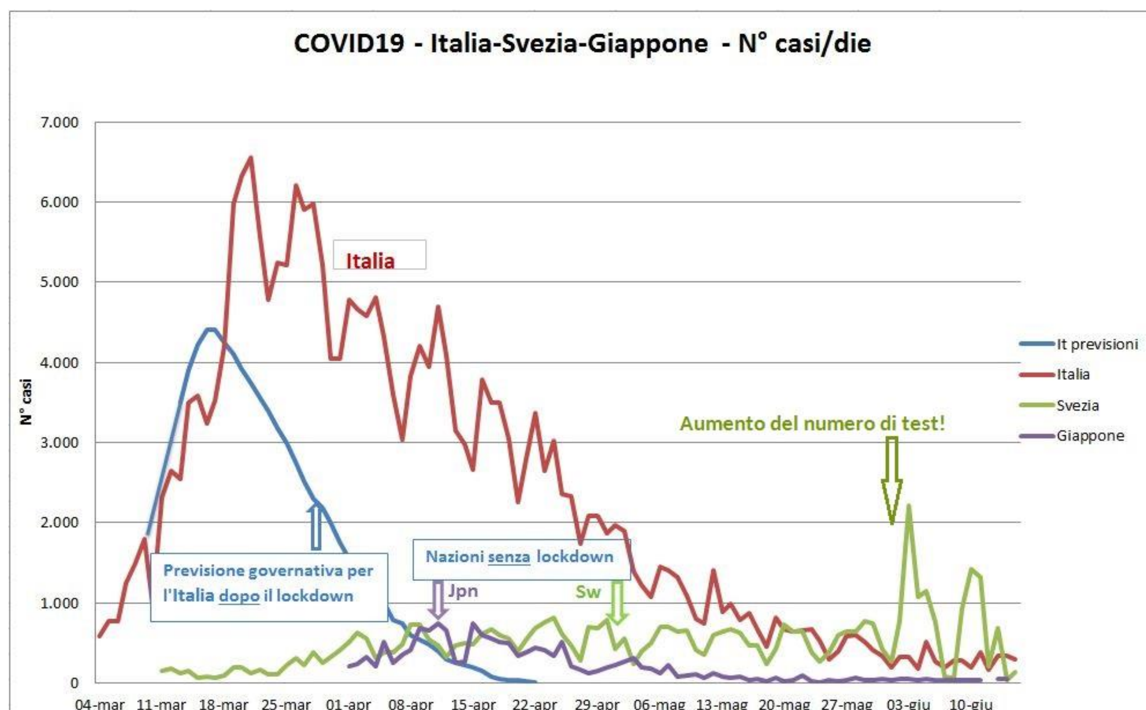


[15] Rivers, T. M. Viruses and Koch's Postulates. Journal of bacteriology 33, 1-12 (1937).

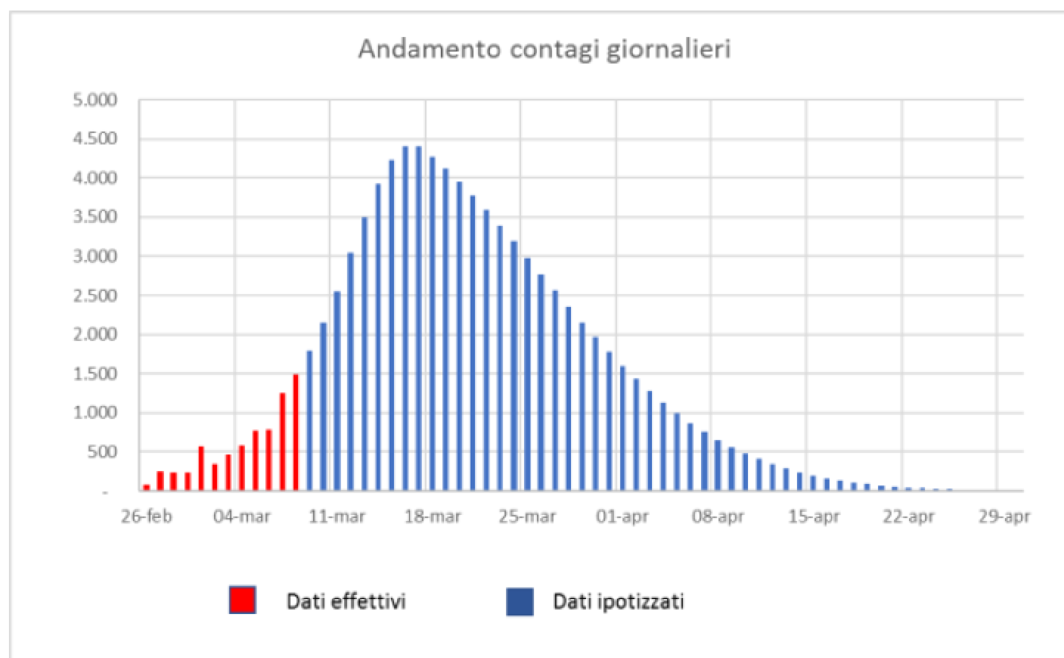
[16] https://www.worldometers.info/coronavirus/country/sweden/

[17] https://www.worldometers.info/coronavirus/country/japan/

[18] https://www.worldometers.info/coronavirus/country/italy/



[19] Bozza relazine tecnica. Decreto-legge recante misure urgenti a causa dell'emergenza epidemiologica da COVID-19. 11 marzo 2020. A pag 36 il grafico di previsione, poi cancellato nella versione finale:

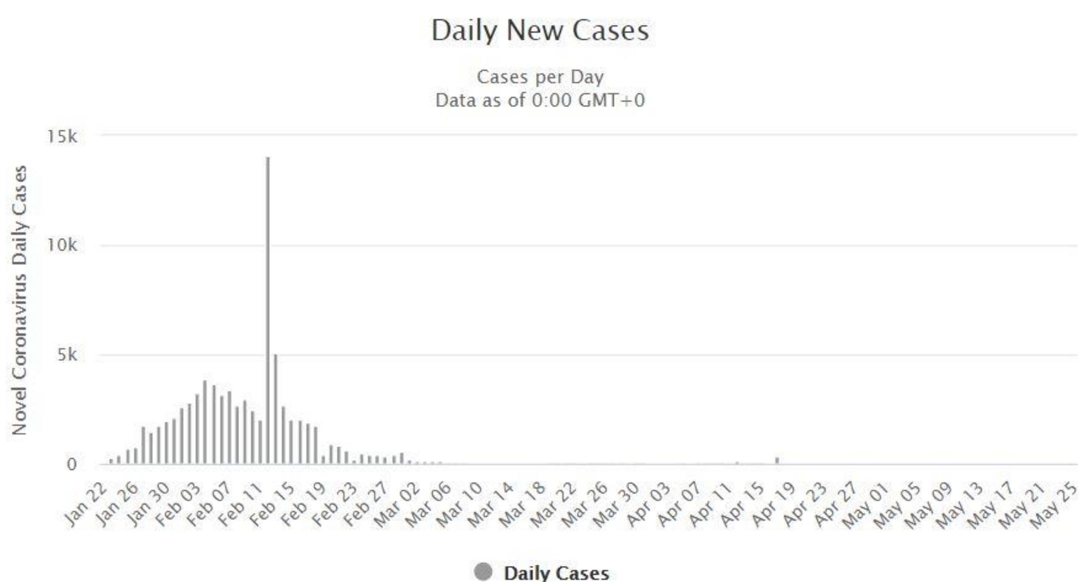


[20] Coronavirus. "Con riapertura totale entro metà giugno 151 mila malati in terapia intensiva". Il report del Comitato tecnico-scientifico che ha convinto il Governo. 28/04/2020. http://www.quotidianosanita.it/studi-e-analisi/articolo.php?articolo_id=84660

[21] Gates B. Innovation for Pandemics. N Engl J Med 378;22 May 31, 2018.

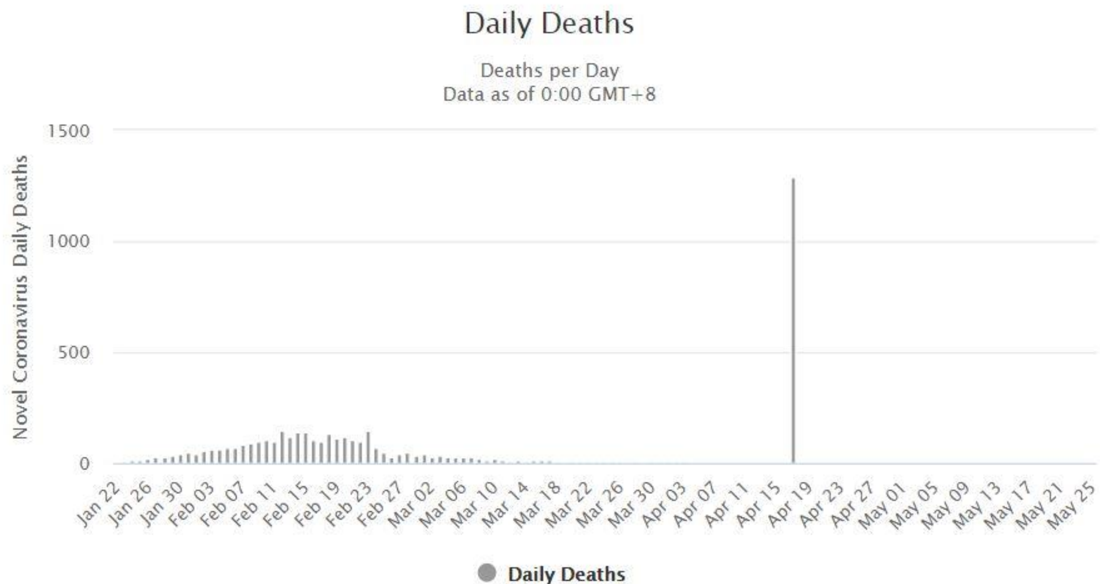
[22] Event 201 A Global Pandemic Exercise. PUBLIC-PRIVATE COOPERATION FOR PANDEMIC PREPAREDNESS AND RESPONSE A CALL TO ACTION. October, 18, 2019.

[23] Worlmeter Coronairus Cina casi:

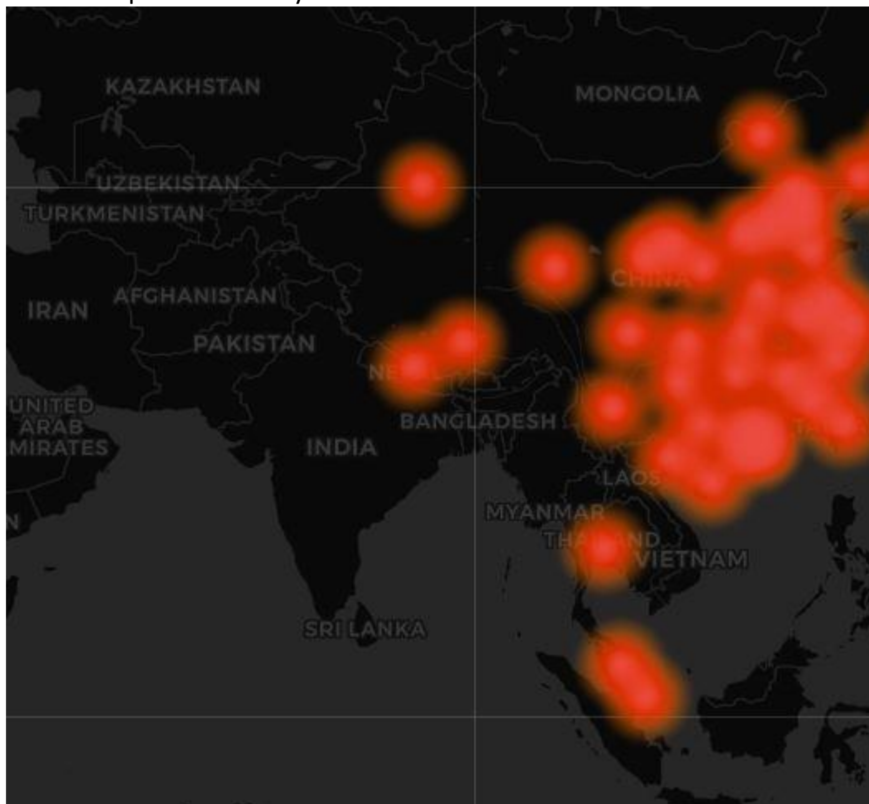


[24] Worlmeter Coronairus Cina decess (i decessi relativi al giorno 18 aprile sono totalmente svincolati dai casi):

Daily New Deaths in China



[25] John Hopkin University. Schermata del 3 marzo 2020



[26] Ruggiero E. Ogni minuto nel mondo 5 bambini muoiono di fame. Un rapporto https://www.agi.it/estero/bambini_muoiono_malnutrizione_save_the_children-4488527/news/2018-10-16/

[27] Oxfam. Fame nel mondo, oltre 113 milioni di persone nel mondo allo stremo nel 2018 https://www.repubblica.it/solidarieta/emergenza/2019/04/02/news/fame_nel_mondo_la_risposta_e_ancora_tragicamente_inadeguata_-223109553/.

[28] WHO Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance 19 March 2020.

.

> *"... per la polmonite acquisita in comunità. Test addizionali non dovrebbero ritardare il test per COVID-19. Poiché coinfezioni possono avvenire, tutti i pazienti che soddisfano la definizione di caso dovrebbero essere testati per il virus della COVID-19, indipendentemente se viene ritrovato un altro patogeno respiratorio."*

[29] La definizione adottata dall'ISS:

> *La definizione internazionale di caso prevede che venga considerata caso confermato una persona con una conferma di laboratorio del virus che causa COVID-19 a prescindere dai segni e sintomi clinici
>
> https://www.ecdc.europa.eu/en/case-definition-and-european-surveillance-human-infection-novel-coronavirus-2019-ncov

[30] Albenga, studentessa di 17 anni muore di polmonite. Ma è giallo: il tampone ha escluso il virus. Il Secolo XIX. https://www.ilsecoloxix.it/savona/2020/04/29/news/albenga-studentessa-di-17-anni-muore-di-polmonite-ma-e-giallo-il-tampone-ha-escluso-il-virus-1.38780260

[31] Ai T, Yang Z, Hou H, et al. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. Radiology 2020 Feb 26:200642 [Epub ahead of print].

[32] Bandirali M, Sconfienza LM, Serra R, Brembilla R, Albano D, Pregliasco F E, Messina C. Chest Radiograph Findings in Asymptomatic and Minimally Symptomatic Quarantined Patients in Codogno, Italy during COVID-19 Pandemic. Radiology. 2020;295(3):E7. doi:10.1148/radiol.2020201102.

[33] Damiano S. Spuntano i casi simil Covid polmonite e tampone negativo . 17 maggio 2020. https://www.ilgiornale.it/news/cronache/coronavirus-118-casi-covid-polmonite-e-tampone-negativo-1863644.html

[34] Woloshin S et al. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection — Challenges and Implications. N Eng J Med June 5, 2020. DOI: 10.1056/NEJMp2015897

[35] Li Z et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. J Med Virol. 2020;1–7.

[36] Wise J. Covid-19: Risk of second wave is very real, say researchers. BMJ 2020;369:m2294 doi: 10.1136/bmj.m2294 (Published 9 June 2020).

[37] Sensibilità 88.66% e specificità 90.63%. Ipotesi prevalenza 5% su popolazione di 60 milioni: 3 milioni veri positivi, di cui individuati dal test 2.660 (sensibilità 88,66%); 340.000 falsi negativi. Dei 57 milioni di veri negativi, 5.341.000 saranno identificati come positivi (falsi positivi).

[38] Sensibilità 88.66% e specificità 90.63%. Ipotesi prevalenza 12% su popolazione di 60 milioni: 7,2 milioni veri positivi, di cui individuati correttamente dal test 6.384.000 (sensibilità 88,66%); 816.000 falsi negativi. Dei 52,8 milioni veri negativi, 4.947.000 saranno identificati come positivi (falsi positivi). Quasi 1 su 2.

[39] Cairns E. Covid-19 antibody tests face a very specific problem. April 22, 2020. https://www.evaluate.com/vantage/articles/analysis/spotlight/covid-19-antibody-tests-face-very-specific-problem

[40] Awesomecapital. FDA clamps down on Covid-19 antibody tests. May 7, 2020 https://awesomecapital.wordpress.com/2020/05/07/fda-clamps-down-on-covid-19-antibody-tests/

[41] Wilson FP. COVID 'Immunity Passport' No More Reliable Than a Coin Flip. Medscape. 27 maggio 2020. https://www.medscape.com/viewarticle/931097

[42] Franchi F. Il test della margherita a confronto. 23 aprile 2020 https://www.facebook.com/fabio.franchi.2.0/posts/150846839838142

[43] FDA. In Vitro Diagnostics EUAs. https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/vitro-diagnostics-euas (download June 17, 2020).

[44] Abbott. Advancing diagnostics of COVID-19. https://www.corelaboratory.abbott/us/en/offerings/segments/infectious-disease/sars-cov-2

[45] Woloshin op. cit.

[46] Whitman JD et al. Test performance evaluation of SARS-CoV-2 serological assays. https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.25.20074856v2

[47] Lassaunière R et al. Evaluation of nine commercial SARS-CoV-2 immunoassays. https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.09.20056325v1.full.pdf

[48] FDA. EUA Authorized Serology Test Performance https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-situations-medical-devices/eua-authorized-serology-test-performance

[49] Elizabeth Cairns. The FDA gets aggressive with Covid-19 antibody tests. June 18, 2020. https://www.evaluate.com/vantage/articles/news/policy-and-regulation/fda-gets-aggressive-covid-19-antibody-tests.

[50] Woloshin op cit.

[51] D'Ambros Chiara Intervista al prof Andrea Crisanti "Epidemia di coronavirus in Italia" https://www.globalist.it/science/2020/03/22/crisanti-epidemia-di-coronavirus-in-italia-numeri-inesatti-male-contenimento-e-monitoraggio-di-positivi-2054890.html

[52] AGI Per Borrelli i potenziali contagiati sono circa 600 mila. 24marzo 2020 https://www.agi.it/cronaca/news/2020-03-24/coronavirus-borrelli-contagiati-7798932/

[53] Pasqualetto A. Epidemia sottovalutata. Intervista al prof Andrea Crisanti. https://www.corriere.it/cronache/20_marzo_24/coronavirus-crisanti-emergenza-sottovalutata-italia-450-mila-casi-questo-fallimento-ee6b83fc-6e0c-11ea-9b88-27b94f5268fe.shtml

[54] Matteo Bassetti: «Ipotesi prevalenza in Italia tra il 12 e il 20%, significa almeno 5-8 milioni di positivi»https://www.ilmessaggero.it/salute/focus/coronavirus_bassetti_milioni_positivi_test_sierologici_ultime_notizie-5170064.html.

[55] Camozzi M. Coronavirus, 34% degli italiani positivo. Studio rivoluzionario dalla Puglia. 12 maggio. https://www.affaritaliani.it/cronache/coronavirus-puglia-uno-studio-ribalta-dati-molti-positivi-sviluppano-immunita-671644.html

[56] Meleam. Sars-cov2 Coronavirus (COVID-19) Febbraio – Aprile 2020 https://meleamspa.com/download/3504/

[57] Comar M et al. COVID-19 experience: first Italian survey on healthcare staff members from a Mother-Child Research Hospital using combined molecular and rapid immunoassays test. April 22, 2020. https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.19.20071563v1

[58] Elizabeth Cairns The FDA gets aggressive with Covid-19 antibody tests. June 18, 2020 https://www.evaluate.com/vantage/articles/news/policy-and-regulation/fda-gets-aggressive-covid-19-antibody-tests

[59] FACT SHEET FOR HEALTHCARE PROVIDERS SARS-CoV-2 IgG assay - Abbott Laboratories Inc. April 26, 2020 https://www.corelaboratory.abbott/sal/faq/SARS-CoV-2 IgG EUA HCP Fact Sheet.pdf

[60] Whitman D et al. op.cit.

[61] Corman V M et al. . Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3):pii=2000045.
L'epidemia in corso del nuovo coronavirus (2019-nCoV) recentemente emerso rappresenta una sfida per i laboratori di sanità pubblica poiché **gli isolati di virus non sono disponibili** mentre ci sono prove crescenti che l'epidemia è più diffusa di quanto si pensasse inizialmente e che già si verifica una diffusione internazionale tra i viaggiatori. Obiettivo: abbiamo mirato a sviluppare e implementare **una solida metodologia diagnostica da utilizzare in ambienti di laboratorio di sanità pubblica senza disporre di materiale virale**.

[62] Zhu N et al (op cit).

[63] Zhou et al. (op cit)

[64] Crowe D. Flaws in Coronavirus Pandemic Theory. https://theinfectiousmyth.com/book/CoronavirusPanic.pdf

[65] Young BE et al. Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in
Singapore. JAMA. 2020 Mar 3. https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2762688.

[66] Young BE et al op cit.

[67] Li Q. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. N Engl J
Med. 2020 Jan 29. https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2001316.

[68] Bustin SA et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. Clin Chem. 2009 Apr; 55(4): 611-22.
https://academic.oup.com/clinchem/article/55/4/611/5631762

[69] Crowe D. Episode 251: Stephen Bustin on Challenges with RT-PCR. The Infectious Myth. 2020 Apr 14; 251. https://infectiousmyth.podbean.com/e/the-infectious-myth-stephen-bustin-on-challenges-with-rt-pcr/

[70] Crowe D. Episode 251 op.cit.

[71] Bustin SA et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. Clin Chem. 2009 Apr; 55(4): 611-22.
https://academic.oup.com/clinchem/article/55/4/611/5631762

[72] Corman V et al. Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR. Charité Virology. 2020 Jan 17.
http://davidcrowe.ca/SciHealthEnv/papers/12715-RT-PCR_Coronavirus.pdf

[73] Emergency Use Authorizations for COVID-19 Tests. FDA. 2020 Apr 19.
https://www.fda.gov/medicaldevices/
emergency-situations-medical-devices/emergency-use-authorizations

[74] Zou L et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. N Engl J Med.
2020 Mar 19; 382(12): 1177-1179. https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc2001737

[75] Crisanti A. Situazione gravissima. Sifacciano tamponi a tappeto. Intervista a Il Gazzettino.
https://www.ilgazzettino.it/nordest/padova/coronavirus_italia_news_virologo_situazione_grave_tamponi_a_tappeto_andrea_crisanti-5102413.html

[76] Locatelli F. Presidente Ist Sup Sanità. "Il virus non è mutato ma è diminuita la sua carica virale" http://www.askanews.it/cronaca/2020/06/10/il-virus-non-%c3%a8-mutato-ma-%c3%a8-diminuita-la-sua-carica-virale-top10_20200610_160026/

[77] Redazionale. Coronavirus, decessi dimezzati in un giorno. Calano casi, migliora indice di contagio https://www.ilgiorno.it/cronaca/coronavirus-lombardia-1.5245040

[78] Li Y et al. Stability issues of RT-PCR testing of SARS-CoV-2 for hospitalized patients clinically diagnosed with COVID-19. J Med Virol. 2020 Mar 26.
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jmv.25786

[79] https://www.nationalgeographic.it/wildlife/2020/04/coronavirus-tigre-positiva-allo-zoo-di-new-york-gli-altri-animali-sono-pericolo.

[80]
https://www.repubblica.it/cronaca/2020/02/29/news/coronavirus_oms_primo_caso_cane_contagiato_a_hong_kong-249913111/

[81] https://www.agi.it/estero/news/2020-05-02/gatto-positivo-covid-8497682/

[82] https://www.youtube.com/watch?v=dYfSqMult6c.

[83] International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV. "*Virions are spherical, 120–160 nm across (Coronavirinae)*" Virus Taxonomy: 2019 Release EC 51, Berlin, Germany, July 2019 Email ratification March 2020 (MSL #35).
(download June, 22 2020: "Virions are spherical, 120–160 nm across (Coronavirinae)" https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae

[84] Raphael Dolin. Coronavirus infections, including SARS. Etiologic Agent, in Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th Edition.

[85] Ksiazek TG et al. A Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome N Engl J Med 2003;348:1953-66.

[86] Xing-Yi Ge et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. Nature 2013;503:535-8.

[87] Zhu N et al. op. cit.

[88] J Ruler

[89] Zhou P et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 2020;579:270-3.

[90] Bao, L. et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. Nature https://doi.org/10.1038/s41586-020-2312-y (2020).

[91] Zhu et al. op cit

[92] Ren Li-Li et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study Chinese Medical Journal 2020;133(9).

[93] Caly L, Druce J, Roberts J, et al. Isolation and rapid sharing of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) from the first patient diagnosed with COVID-19 in Australia. Med J Aust. 2020;212(10):459-462. doi:10.5694/mja2.50569

[94] Su H, Yang M, Wan C, et al. Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China. Kidney Int. 2020;98:219–227.

[95] Miller SE and Brealey JK. Visualization of putative coronavirus in kidney. Kidney International (2020) 98, 228–239.

[96] Kissling S, Rotman S, Gerber C, et al. Collapsing glomerulopathy in a COVID-19 patient. Kidney Int. 2020;98:228–231.

[97] Miller op cit.

[98] Kissling et al. Authors reply. Kidney Int. 2020;98:232.

[99] Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. Lancet 2020; 395: 1417–18.

[100] Cynthia S Goldsmith, Sara E Miller et al. Electron microscopy of SARS-CoV-2: a challenging task. Lancet 2020; 395:e99.

[101] Miller op cit.

[102] International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV. Op. cit.

[103] Sheridan C. Coronavirus and the race to distribute reliable diagnostics. Nature. 19 FEBRUARY 2020. https://www.nature.com/articles/d41587-020-00002-2

[104] Gallagher J. Are Coronavirus test flawed? BBC. February 13, 2020. https://www.bbc.com/news/health-51491763

[105] https://mp.weixin.qq.com/s/RpXRE8Ow5nHeaLhxIEr-Ng

Tan Wei, vicepresidente del Comitato professionale per la radiologia medica della provincia di Hubei, ritiene che i risultati della TC siano in buon accordo con la nuova polmonite coronarica, ma il rilevamento negativo dell'acido nucleico rappresenta circa il 30% -40%.

[106] Corman (op cit)

[107] Xiao S-Y et al. Evolving status of the 2019 novel coronavirus infection: Proposal of conventional serologic assays for disease diagnosis and infection monitoring. J Med Virol. 2020;92:464–467.

[108] James Gallagher. op. cit.

[109] Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, et al. Correlation of chest CT and RT-PCR testing in coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: a report of 1014 cases. Radiology. February 26, 2020; 1-23. https://doi.org/10.1148/radiol.2020200642 .

[110] Catherine Carver, Nick Jones. Is there any significant difference in sensitivity of COVID-19 virus (SARS-CoV-2) tests based on swabs from oropharyngeal (OP) vs nasopharyngeal (NP) sampling vs both? CEBM research March 26, 2020 Centre for Evidence Based Medicine. 25th March 2020 https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:LcjTQ6zHn4gJ:https://www.cebm.net/covid-19/comparative-accuracy-of-oropharyngeal-and-nasopharyngeal-swabs-for-diagnosis-of-covid-19/+&cd=1&hl=it&ct=clnk&gl=it (download 19 giugno, 2020)

"VERDICT
The only current COVID-19 specific data comparing Oro Pharingeal (OP) with Naso Pharingeal (NP) swabs comes from two low quality, non-peer-reviewed studies and should be viewed with caution. It is not possible to accurately assess sensitivity from the existing data and there are no data to assess the diagnostic impact of combining both tests."

[111] Tan Yucheng. Chi sono pazienti falsi negativi con nuova polmonite da Coronavirus. Southern People Weekly 9 febbraio https://mp.weixin.qq.com/s/RpXRE8Ow5nHeaLhxIEr-Ng

[112] Xingzhi Xie et al. Chest CT for Typical 2019-nCoV Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing. Radiology Published Online:Feb 12 2020https://doi.org/10.1148/radiol.2020200343

---

[113] Dr Andrew Kaufman Researched Position On COVID 19 Virus or Exosomes. https://www.youtube.com/watch?v=Gsyhvb8EI3A

[114] Lida A Beninson 1 , Monika Fleshner Exosomes: An Emerging Factor in Stress-Induced Immunomodulation . Semin Immunol. 2014;26(5):394-401.

[115] Sahoo S et al. Exosomes From Human CD34Stem Cells Mediate Their Proangiogenic Paracrine Activity. Circ Res. 2011;109:724-728.

[116] Pironti G et al. Circulating Exosomes Induced by Cardiac Pressure Overload Contain Functional Angiotensin II Type 1 Receptors. Circulation Volume 131, Issue 24, 16 June 2015, Pages 2120-2130.

[117] Fortunato O et al. Exo-miRNAs as a New Tool for Liquid Biopsy in Lung Cancer. Cancers 2019;11 (888):1-16.

[118] Nemeth A. et al. Antibiotic-induced release of small extracellular vesicles (exosomes) with surface-associated DNA. Scientific Report 2017;7:8202. DOI:10.1038/s41598-017-08392-1

[119] Tan Yucheng (op cit).

[120] Gallagher (op. cit.)

> *"... Dr Li Wenliang, who first raised concerns about the disease and has been hailed as a hero in China after dying from it. Dr Li posted a picture of himself on social media from his hospital bed, on 31 Jan. The next day, he said, he had been diagnosed for coronavirus He said his test results had come back negative on multiple occasions before he had finally been diagnosed. "*

[121] **1) Vaccinazioni pregresse**. In particolare nella zona più colpita (brescia Bergamo), l'attuale epidemia è stata preceduta di poco da una estesa campagna vaccinale per anti influenza, anti pneumococco, anti-HZV, anti meningococco. **2) Elevatissimo inquinamento ambientale** dell'aria nella zona di Bergamo e Brescia; **3)** Per la gravità della malattia ha inciso molto lo **stress del sistema sanitario** che si è trovato impreparato, anche grazie ai tagli effettuati egli ultimi 10 anni, con riduzione del personale e dei posti letto nelle terapie intensive **4) Il carico di lavoro e di tensione** emotiva del personale medico ed infermieristico è stato eccessivo e prolungato. **5) Le autopsie** che hanno permesso un miglioramento dell'approccio terapeutico sono state inizialmente scoraggiate dallo stesso Ministero; **6) Sono stati testati farmaci sperimentali** di nulla utilità ed alta tossicità, secondo protocolli aggressivi, "giustificati" dalla presenza di una "malattia mortale", pericolosi soprattutto per chi stava già male, era in età avanzata od aveva patologie concomitanti, **7) I protocolli migliori avrebbero potuto essere individuati prima.** Il cortisone è stato usato in modo difforme da quanto previsto per le polmoniti virali. Inizialmente non era provesta la terapia con eparina; l'antibiotico azitromicina è stato associato a miglioramento della prognosi (possibile coinvolgimento di mycoplasmi?).

[122] Samule Ceruti, Medicina d'Urgenza, Lugano, Svizzera. Lettera aperta ai colleghi italiani https://www.vglobale.it/wp-content/uploads/2020/03/Coronavirus-dati-aggiornati-al-12-marzo-2020.pdf

[123]David Icke, intervista a London Real https://www.bitchute.com/video/EqiVm55o5d7b/